

Einfluß von ACE-Hemmern,
Acetylcholinrezeptor-Blockern,
Alpha-Rezeptor-Blockern
und Calmodulin-Antagonisten
auf die Motilität menschlicher
Spermatozoen

Rainer Placzek

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der
Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. Dr. h. c. O. Braun-Falco

Einfluß von ACE-Hemmern, Acetylcholinrezeptor-Blockern,
Alpha-Rezeptor-Blockern und Calmodulin-Antagonisten
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Rainer Placzek
aus
Würzburg

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. W.-B. Schill

Mitberichterstatter: 1. Prof. Dr. med. Dr. h. c. O. Braun-Falco
2. Prof. Dr. med. W. Forth

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dr. phil. nat. F. Krassnigg

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung:

9. April 1987

LISTE DER VERWANDTEN BEZIEHUNGEN

101. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

102. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

103. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

104. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

MEINEN ELTERN

105. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

106. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

107. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

108. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

109. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

110. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

111. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

112. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

113. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

114. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

115. Regelmäßige Geschäftsbeziehung

LISTE DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN

ACE: Angiotensin Converting Enzyme

ATP: Adenosintriphosphat

CAPA: Computer Aided Picture Analysis

DMF: N,N-Dimethylformamid

FMP: Forward Motility Protein

FSH: Follikel-stimulierendes Hormon

KKS: Kallikrein-Kinin System

LDH: Laktatdehydrogenase

LH: Luteinisierendes Hormon

MEP: Multiple Exposure Photography

MW: Molekulargewicht

rad: 1 rad = die Absorption der Strahlenenergie
von 100 erg in 1 Gramm Gewebe

RAS: Renin-Angiotensin System

um: Mikrometer = 10^{-6}m

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
1.1. Vorwort	1
1.2. Männliche Fertilität	3
1.3. Zielsetzungen dieser Arbeit	5
2. GRUNDLAGEN	6
2.1. Morphologie und Biochemie menschlicher Spermatozoen ..	6
2.1.1. Morphologie	6
2.1.2. Biochemie	8
2.2. Motilität menschlicher Spermatozoen	9
2.2.1. Bedeutung der Motilität	9
2.2.2. Untersuchungsmethoden und Beurteilungskriterien	10
2.2.3. Motilität im männlichen Genitaltrakt	12
2.2.3.1. Motilität im Nebenhoden	12
2.2.3.2. Motilität zum Zeitpunkt der Ejakulation	13
2.2.3.3. Motilität im Seminalplasma	14
2.2.4. Motilität im weiblichen Genitaltrakt	16
2.2.4.1. Motilität in der Vagina	16
2.2.4.2. Motilität im Zervixmukus	17
2.2.4.3. Motilität in Uterus und Tuben	18
2.2.5. Energieversorgung der Spermatozoen	19
2.2.6. Die Bedeutung transmembranärer Ionentransportprozesse	22
2.2.6.1. Kalzium-Transport durch die Spermatozoen-Membran	22
2.2.6.2. Das kalziumbindende Regulatorprotein Calmodulin	22
2.2.6.3. Rezeptoren der Spermatozoen-Membran	23

2.3.	Der Einfluß des Kallikrein-Kinin und des Renin-Angiotensin Systems auf die Motilität menschlicher Spermatozoen	25
2.3.1.	Physiologische Bedeutung des Kallikrein-Kinin Systems (KKS) und des Renin-Angiotensin Systems (RAS)	26
2.3.1.1.	Das Renin-Angiotensin System (RAS)	26
2.3.1.2.	Das Kallikrein-Kinin System (KKS)	28
2.3.1.3.	Die Schlüsselrolle des Angiotensin-Converting-Enzyme in beiden Systemen	31
2.3.2.	Das Kallikrein-Kinin System und die männliche Fertilität	34
2.3.3.	Die Bedeutung der antifertilen Substanz Gossypol	36
2.3.3.1.	Die antifertile Wirkung von Gossypol	36
2.3.3.2.	Die Hemmung der Spermatozoen-Motilität durch Gossypol	36
2.3.3.3.	Erforschte biochemische Grundlagen	37
2.3.3.4.	Wechselwirkung von Gossypol mit Komponenten des Kallikrein-Kinin- und Renin-Angiotensin Systems	37
2.3.4.	Der Einfluß von Hormonen auf die Spermatozoen-Motilität	39
2.3.4.1.	Theoretische Grundlagen (Stichworte)	39
3.	MATERIAL UND METHODEN	41
3.1.	Definitionen	41
3.2.	Substanzen	41
3.2.1.	Ejakulate	41
3.2.1.1.	Erhalt der Ejakulate	41
3.2.1.2.	Auswahl geeigneter Ejakulate	42
3.2.1.3.	Verarbeitung der Ejakulate	42

3.2.1.3.1.	Puffer	42
3.2.1.3.2.	Vorbereitung der Spermatozoen	44
3.2.1.3.3.	Konzentration der gewaschenen Spermatozoen im Test.	45
3.2.2.	Medikamente	45
3.3.	Meßmethoden	46
3.3.1.	Multiple Exposure Photography (MEP)	46
3.3.1.1.	Durchführung der MEP	46
3.3.1.2.	Auswertung der MEP	47
3.3.1.2.1.	Auswertung der Motilität	47
3.3.1.2.2.	Auswertung der Geschwindigkeit	47
3.3.2.	Analyse der Spermatozoenmotilität mit der Computer- gestützten Bildanalyse (CAPA).....	50
3.3.2.1.	Durchführung der CAPA-Analyse	51
3.3.2.2.	Auswertung	52
4.	VERSUCHSERGEBNISSE	54
4.1.	Gossypol	54
4.1.1.	N,N-Dimethylformamid (DMF) als Lösungsvermittler ..	54
4.2.	(+)-Gossypol	60
4.3.	Captopril	66
4.4.	Enalapril	72
4.5.	Trifluoperazin	78
4.6.	Alpha-Bungarotoxin	85
4.7.	Bromocriptin	91
4.7.1.	N,N-Dimethylformamid als Lösungsvermittler	92
4.8.	Lisurid	98
4.8.1.	N,N-Dimethylformamid als Lösungsvermittler	98
4.9.	Relaxin	104

5.	DISKUSSION	110
5.1.	Allgemeines	110
5.2.	Hormone und männliche Fertilität	111
5.3.	Psychogene Faktoren als Ursache für die Störung der männlichen Fertilität	114
5.4.	Umweltfaktoren und männliche Fertilität	117
5.5.	Diskussion der Meßergebnisse und Schlußfolgerungen ...	121
5.5.1.	Der Einfluß von ACE-Hemmern	121
5.5.2.	Die Hemmung membranständiger Ionentransport-Prozesse .	123
5.5.3.	Der Einfluß von Alpha-Rezeptorblockern	124
6.	ZUSAMMENFASSUNG	126
7.	LITERATURVERZEICHNIS	128
8.	DANKSAGUNG	148
9.	LEBENS LAUF	149

1. EINLEITUNG

1.1. VORWORT

In den letzten Jahren ist der Einfluß von Umweltfaktoren, vor allem von Schadstoffen, aber auch von Pharmaka, auf praktisch alle Lebensbereiche des Menschen immer stärker beobachtet worden.

Eventuelle Schädigungen der männlichen und weiblichen Fortpflanzungsfähigkeit durch Umweltnoxen stellen dabei ein besonders emotionsgeladenes Thema dar. Das gilt vor allem deswegen, weil es als gesichert angenommen werden muß, daß die Zahl der Spermatozoen im Ejakulat - wie in den USA, aber auch in Frankreich festgestellt wurde - in den letzten Jahrzehnten ständig abgenommen hat.

Über den Einfluß von Umweltnoxen und von Pharmaka auf die männliche Fertilität ist nur wenig bekannt. Daher ist es auch meist sehr schwierig, aufzuzeigen, welche Einflüsse für Störungen der männlichen Fertilität von Bedeutung sein können. Denn es gibt nur wenige experimentelle und klinische Untersuchungen, die belegen, daß eine Beeinflussung der Zeugungsfähigkeit des Mannes durch in die Umwelt gelangte Schadstoffe, durch psychogene Faktoren oder durch Pharmaka stattgefunden hat.

Neben berufsbedingten Umweltnoxen, wie sie zum Beispiel bei Arbeitern in der chemischen Industrie häufig gegeben sind, kommt darüber hinaus auch den im Haushalt verwendeten und als gesundheitsschädlich einzustufenden Substanzen - wie halogenierten Kohlenwasserstoffen, aber auch Schwermetallkontaminationen von Lebens- und Genußmitteln und insbesondere den Genußmitteln selbst - ein Einfluß zu, der die männliche Fertilität beeinträchtigt.

Auch ionisierende Strahlung, die auf Hodengewebe einwirkt, kann zu einer bleibenden Unfruchtbarkeit des Mannes führen, vor allem wenn diese Noxe während der Embryonal- und/oder Fetalentwicklung die bereits angelegten Keimbahnzellen oder später die Stammzellen irreversibel schädigt.

Umwelteinflüsse können jedoch nicht nur zu Schäden der Geschlechtszellstrukturen führen, sondern auch das genetische Material verändern. Man unterscheidet daher heute zwischen Zytotoxizität und Genotoxizität. Beide können erheblich voneinander abweichen. Denn Veränderungen an der Erbsubstanz sind für die Fertilität nicht oder nur dann von Belang, wenn sie zu Störungen der Geschlechtszellentwicklung, oder zum Untergang des aus der befruchteten Eizelle entstandenen Keimlings führen. Für die Gesamtpopulation aber sind gerade die durch Schadstoffeinwirkung entstandenen Schäden am genetischen Material der Geschlechtszellen von großer Bedeutung.

Erst die Andrologie als Fach, das sich mit der Physiologie und Pathophysiologie der männlichen Fertilität und Sterilität beschäftigt und das Ziel hat, die vielfältigen Ursachen der männlichen Infertilität beziehungsweise Subfertilität zu erkennen und zu behandeln, hat die Unantastbarkeit und vermeintliche Unzuständigkeit der Männer bei ungewollter Kinderlosigkeit von Ehepaaren in Frage stellen können. Hält man sich vor Augen, daß in über 40 % ungewollt kinderloser Ehen die Ursache hierfür allein beim Mann liegt (38), so wird deutlich, daß der Bedarf an andrologischen Untersuchungen ganz erheblich ist.

Die Andrologie selbst ist in der Medizin eine interdisziplinäre Spezialität. Historisch hat sie sich in Deutschland aus der Dermato-Venerologie entwickelt, wobei aber auch die Gynäkologie, Urologie und Endokrinologie ihre moderne Entwicklung maßgeblich beeinflußt haben. Diese fachübergreifende Stellung sichert ihr zwar ein vielfältiges Interesse der unterschiedlichen Fachrichtungen, doch muß festgestellt werden, daß die klinische Andrologie auch heute noch eher ein Schattendasein führt.

1.2. MÄNNLICHE STERILITÄT

In der Tat sind die Kenntnisse im Hinblick auf männliche Fertilitätsstörungen erstaunlich gering, wogegen die diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten bei weiblichen Fruchtbarkeitsstörungen vielfältiger sind. Es ist bezeichnend, daß bei einem hohen Prozentsatz der Männer die Ursache ihrer Infertilität mit den heutigen diagnostischen Mitteln nicht festzustellen ist, da deren Aussagekraft im Hinblick auf die Befruchtungsfähigkeit der untersuchten Spermatozoen sehr gering ist (2). Dies führt dazu, daß die Therapie der männlichen Sterilität nach wie vor überwiegend empirisch erfolgt und daher häufig mißlingen muß.

Bei einem fertilen Mann werden in den Tubuli seminiferi pro Tag ca. 125 Millionen Spermatozoen gebildet und im Nebenhoden gespeichert (4). Um die Spermatozoen zum richtigen Zeitpunkt des weiblichen Zyklus in der Vagina deponieren zu können, muß eine normale Erektions- und Ejakulationsfähigkeit gewährleistet sein. Während des letzteren Vorganges kommt es zur Vermischung der Spermatozoen mit den Sekreten von Prostata und Bläschendrüsen. Die während des Orgasmus ejakulierten Spermatozoen sind funktionell noch nicht völlig ausgereift; dieser Reifungsprozeß erfolgt offenbar erst während der Aszension zum Eileiter durch die zervikalen und uterinen Sekrete.

In all diesen Etappen des Spermatozoenschicksals können Störungen auftreten, die zur Sterilität führen. Die Ursache der Sterilität liegt dabei in ca. 40 % der Fälle bei der Frau, in ca. 40 % bei dem Mann und in ca. 20 % bei beiden Partnern.

Eine Vorselektion der andrologischen Patienten auf Grund einer genauen klinischen und labordiagnostischen Untersuchung ist unumgänglich, um Männer mit nichtbehandlungsfähiger Infertilität, d.h. solche mit Chromosomenanomalien oder vollständiger Depopulation des Keimepithels, auszuschließen. Für andere Formen der Infertilität stehen heute eine Reihe hormoneller und nicht-hormoneller Behandlungsmethoden zur Verfügung, die - je nach Lokalisation der Schädigung - bei bestimmten Patienten zu einer Besserung der Spermaparameter führen können.

Noch vor einigen Jahren sah man in der Spermatozoendichte einen entscheidenden Faktor für die Spermaqualität; Werte unter 40 Mio. Spermatozoen pro ml rechnete man bereits der Oligozoospermie zu und nahm in diesen Fällen eine eingeschränkte Fertilität an.

Diese Grenzen sind zunehmend weiter definiert worden - heute gelten erst Dichten unter 20 Mio. Spermatozoen pro ml als pathologisch. Neuere Arbeiten kamen in sorgfältiger statistischer Bearbeitung sogar zum Ergebnis, daß eine Spermiendichte von über 10 Mio./ml praktisch keinen Gewinn an Fertilitätswahrscheinlichkeit mehr erbringt, gemessen an der Zahl der lebend geborenen Kinder (9).

Immer größere Bedeutung hingegen mißt man heute dem Parameter Motilität zu, der eines der wichtigsten Kriterien für eine erfolgreiche Befruchtung zu sein scheint (123).

Das bedeutet, daß es weniger auf die absolute Zahl der Spermatozoen ankommt, als vielmehr auf deren Qualität. Ihre Motilität ist ein Qualitätsmerkmal, weshalb eine detaillierte Analyse der Spermatozoenmotilität die Antwort für viele bisher nicht erklärbare Fertilitätsstörungen bereithalten müßte.

1.3. ZIELSETZUNGEN DIESER ARBEIT

Da die Motilität der Spermatozoen das wichtigste Kriterium zur Charakterisierung des Fertilisationspotentials einer Spermatozoenpopulation darstellt und daher bei der Bewertung der Spermparameter einen außerordentlich großen Raum einnimmt, ist eine objektive und reproduzierbare Meßmethode für deren Analyse eine Grundvoraussetzung. Die bis heute in den andrologischen Routinelabors meist durchgeführten Schätzungen durch geschultes Laborpersonal erfüllen diese Voraussetzung leider nicht in jedem Fall, auch wenn diese Untersuchungen von wirklich zuverlässigen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern durchgeführt werden.

Die in dieser Arbeit dargestellten Untersuchungen erfolgten zum Großteil mit der objektiven, aber sehr zeitaufwendigen Methode der "Multiple Exposure Photography" nach Makler (83). Zu einem späteren Zeitpunkt stand uns dann ein Bildanalysecomputer (Fa. Brunner Medizintechnik, München) zur Verfügung, der bislang nur in wenigen andrologischen Forschungslabors eingesetzt werden kann. Dieses Meßsystem stellt eine objektive und reproduzierbare Methode zur Erfassung der Spermatozoen-Motilität dar. Der erforderliche Zeitaufwand ist wesentlich kürzer als bei der Makler-Methode.

Das Ziel unserer Untersuchungen war, den Einfluß verschiedener Pharmaka auf die Beweglichkeit und Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen zu analysieren. Insbesondere sollten solche Wirkstoffe untersucht werden, die in den Energiestoffwechsel menschlicher Spermatozoen eingreifen können. Außerdem war an die Verwendung von Pharmaka gedacht, die in membranständige Ionentransportmechanismen eingreifen.

Als Medikamente wählten wir Hemmer des Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) aus, da dieses Enzym als Bindeglied zwischen dem Kallikrein-Kinin System und dem Renin-Angiotensin System gilt, um den Einfluß von ACE auf die Spermatozoen-Motilität zu klären. Als weitere Substanzen kamen Calmodulin-Antagonisten, Acetylcholin-Rezeptorblocker und Alpha-Rezeptorblocker zur Anwendung.

2. GRUNDLAGEN (LITERATURÜBERSICHT)

2.1. MORPHOLOGIE UND BIOCHEMIE MENSCHLICHER SPERMATOZOEN

Spermatozoen sind hoch differenzierte Zellen mit einem haploiden Chromosomensatz. Ihre Reifung erfolgt während einer über zweieinhalb Monate dauernden Entwicklungszeit in den Tubuli seminiferi der Hoden und einer anschließenden Ausreifung in den Nebenhoden. Sie haben nur eine einzige spezifische Funktion zu erfüllen: die Befruchtung der Eizelle.

2.1.1. MORPHOLOGIE

Das Spermatozoon hat eine sehr komplexe Struktur, um seine Aufgaben erfüllen zu können: Wanderung durch den weiblichen Genitaltrakt, Durchdringung der Hüllen der Eizelle, Befruchtung der Eizelle.

Das reife Spermatozoon setzt sich zusammen aus:

1. Dem Kopf, der ca. 3 - 5 μ m lang, 2.5 - 3.5 μ m breit und 1.5 μ m tief ist. Die beiden morphologisch auffallendsten Komponenten sind der Zellkern mit dem haploiden Chromosomensatz und das Akrosom, das kappenartig den apikalen Teil des Kopfes bedeckt und wie ein Lysosom eine ganze Reihe von Hydrolasen enthält, um seine physiologische Funktion erfüllen zu können.
2. Dem Hals, der die Zentriolen enthält.
3. Dem Mittelstück, das von einem Achsenfaden durchzogen wird und von Mitochondrien umgeben ist. Das Mittelstück stellt die Energie für den Fortbewegungsapparat der Samenzelle zur Verfügung. Seine Achse weist eine "9+2"-Struktur auf. Diesen Fäden aufgelagert sind neun weitere, wesentlich dickere homogene Fibrillen, die bis an den Anfang des Schwanzes reichen.

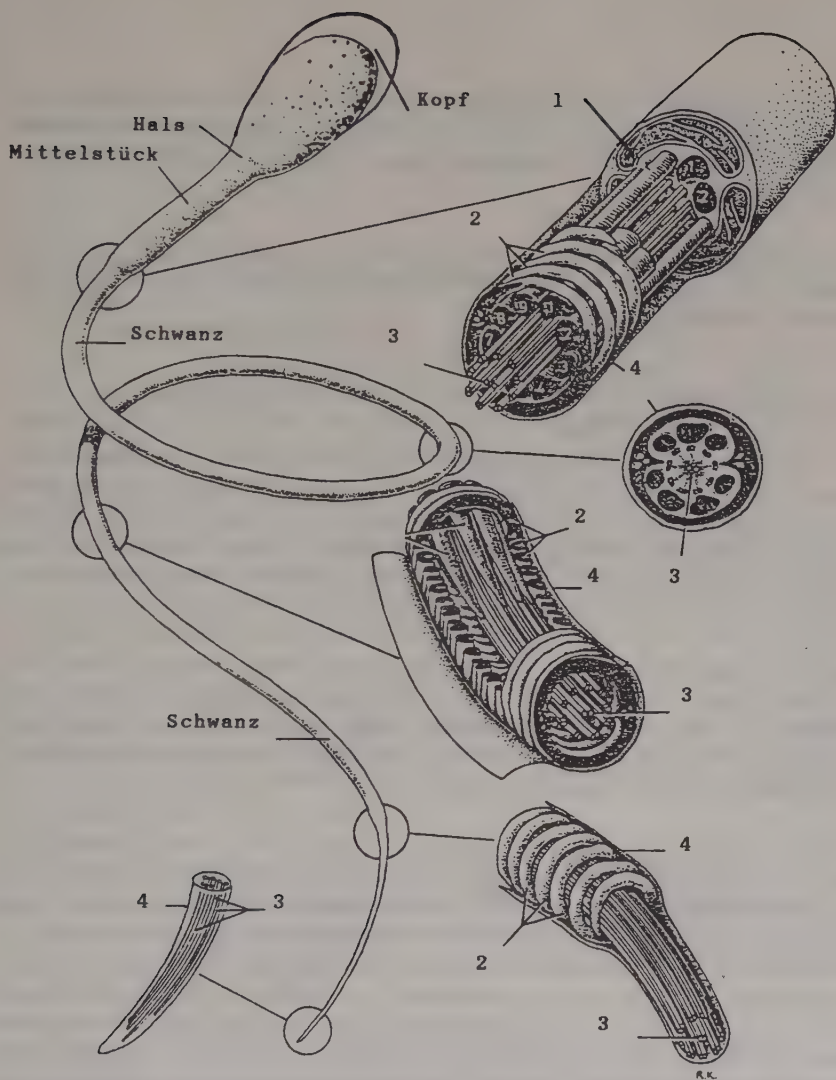


Abb. 1: Schema des Feinbaues der menschlichen Samenzelle.

1 = Mitochondrien, 2 = Ringfaserscheide,

3 = Achsenmikrotubuli, 4 = Zellmembran.

(modifiziert nach Krstić 1976)

4. Dem Schwanz, der den größten Anteil an der Gesamtlänge des Spermatozoon hat. Die Fibrillen weisen ebenfalls die charakteristische "9+2" - Struktur auf, die jedoch am distalen Schwanzende fehlt.

Das gesamte Spermatozoon wird von einer Plasmamembran (Plasmalemma) überzogen. Die Gesamtlänge eines Spermatozoon (Kopf und Schwanz) beträgt ca. 50 um.

2.1.2. BIOCHEMIE

Die biochemisch bedeutsamsten Stoffe, die im Akrosom nachgewiesen werden können, sind drei Penetrationsenzyme, eine Hyaluronidase, ein Corona-penetrating enzyme und Akrosin. Diese Enzyme werden für die lokale Auflösung und Perforation der Eihüllen, des Cumulus oophorus, der Corona radiata und der Zona pellucida gebraucht.

Die Akrosinaktivität der Spermatozoen korreliert gut mit der Fertilität bzw. Infertilität des jeweiligen Individuums (92). So konnte u.a. bei Polyzoospermie-Patienten (über 250 Mio. Spermatozoen/ml), die meist infertil sind, eine erniedrigte Akrosinaktivität nachgewiesen werden (127).

Außerdem enthalten Spermatozoen alle Enzyme für die Glykolyse, den Citratzyklus, die Fettsäureoxidation, die Atmungskette und den Pentosephosphatweg (91). Diese Enzyme befinden sich in den Mitochondrien des Mittelstücks und verleihen den Spermatozoen die Fähigkeit, eine Reihe exogener und endogener Substrate zu verstoffwechseln. Die Metabolisierung von Kohlehydraten steht hierbei an erster Stelle, da Spermatozoen nur geringe endogene Glykogenvorräte besitzen. Während das Ejakulat vor allem Fruktose als Kohlenhydrat enthält, steht den Spermatozoen im Zervixmucus und in den uterinen Sekreten vorwiegend Glukose als Kohlenhydrat zur Verfügung.

Diese Stoffwechselvorgänge sind zur Bereitstellung eines ausreichenden ATP-Niveaus erforderlich, um eine kontinuierliche Aufrechterhaltung der Spermatozoen-Motilität zu gewährleisten (130).

2.2. MOTILITÄT MENSCHLICHER SPERMATOZOEN

2.2.1. BEDEUTUNG DER MOTILITÄT

Eine der wichtigsten spezifischen Funktionen der ausgereiften Spermatozoen ist die Fähigkeit zur eigenständigen Vorwärtsbewegung. Mit ihr werden die folgenden drei Ziele verfolgt:

1. Zurücklegung großer Wegstrecken gegen die Schwerkraft (durch den Zervixmucus, den Uterus und die Tuben bis in die Ampulle) in relativ kurzer Zeit. Beachtenswert ist die Länge der gesamten Strecke im Vergleich zur Länge eines einzelnen Spermatozoons!
2. Möglichst effektive Suche nach einer Eizelle in der Ampulle. Zu diesem Zweck bleibt das Spermatozoon in der Tube für mehrere Stunden in Bewegung und stellt sich auf einen hypermotilen Bewegungstypus um (142).
3. Eindringen in die Hüllen der Eizelle. Hierbei spielt die Antriebskraft des schlagenden Schwanzes eine entscheidende Rolle, um den Kontakt des Spermatozoons mit der Eizelle während der proteolytischen Verdauung der Zona pellucida zu gewährleisten (40).

Motilitätsstörungen können sehr unterschiedliche Ursachen haben und führen zu einer verminderten bis fehlenden Fruchtbarkeit des Individuums.

2.2.2. UNTERSUCHUNGSMETHODEN UND BEURTEILUNGSKRITERIEN

In der Vergangenheit wurde eine ganze Reihe von Untersuchungsmethoden entwickelt, die mit sehr unterschiedlicher Objektivität und Genauigkeit die einzelnen Parameter der Spermatozoenmotilität erfassten. Es handelt sich um folgende Techniken (modifiziert nach Mitchell et al. (89)):

1. Phasenkontrastmikroskopie und Verwendung einer Stoppuhr
2. Spektrophotometrische Messverfahren
3. "Time Exposure" Photomicrographie, z.B. im Dunkelfeld (103)
4. Ultraviolettlicht-Absorption
5. "Sedimentation Orientation"
6. Kinematophotographie mit dem Stroboskop
7. Direktbeobachtung mit Hilfe des Phasenkontrastmikroskopes
8. "Multiple Exposure" Photographie (83)
9. Dreifarbiges Photographie (79)
10. Laser-Doppler-Spektroskopie (148)

Die Auswertungskriterien bei den einzelnen Methoden unterscheiden sich erheblich bezüglich ihrer Genauigkeit und Differenziertheit. Overstreet und Mitarbeiter (103) beispielsweise schlagen für ihre Methode ("Time Exposure" Photomicrographie) sehr detaillierte Beurteilungskriterien vor:

1. Unbewegliche Spermatozoen (in % der Gesamtspermatozoenzahl)
2. Bewegliche Spermatozoen (in % der Gesamtspermatozoenzahl)
3. Durchschnittsgeschwindigkeit der motilen Spermatozoen (in $\mu\text{m/s}$).
4. Progressiv bewegliche Spermatozoen (über $25 \mu\text{m/s}$) in % der beweglichen Spermatozoen
5. Durchschnittsgeschwindigkeit der progressiv beweglichen Spermatozoen

Außerdem werden die verschiedenen Bewegungsmuster beurteilt und in fünf Gruppen eingeteilt:

1. Ortsbewegung mit Vibration (nur der Schwanz ist motil)
2. Propulsivbewegung (geradlinig)
3. Bogenförmige Bewegung
4. Drehbewegung (in der Bildebene sieht man eine symmetrische, gleichmäßig wellenförmige Abbildung der Drehbewegung)
5. Schlingernde Bewegung (in der Bildebene sieht man eine asymmetrische, unregelmäßig wellenförmige Abbildung der Schlingerbewegung)

Ein Bewegungstypus, der hier nicht ausdrücklich klassifiziert wurde, ist die hyperaktivierte Motilität oder "Whiplash"-Bewegung, die in den letzten Jahren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen war (18, 21, 69, 70, 151). Sie ist charakterisiert durch eine vermehrte Amplitude der Schwanzbewegungen mit verstärkter Flexion des Spermatozoenhalses sowie eine Asymmetrie der Schwanzschläge (21). Somit wäre die "Whiplash"-Bewegung am ehesten unter Punkt 5.) der oben aufgeführten Bewegungsmuster einzuordnen. Die weit ausholenden Schwanzbewegungen erinnerten die Untersucher an peitschenartige Schläge ("whiplash-like flagellar bending") und gaben diesem Bewegungstyp seinen Namen (69).

Das Motilitätsmuster beeinflusst die Fertilitätsfähigkeit der Spermatozoen ganz entscheidend, da solche mit Vibrations- oder Drehbewegung die Zervixbarriere nicht überwinden können. Nur Spermien mit Propulsivbewegung können ihr Ziel erreichen und die Eizelle befruchten (7).

Die Steigerung der Spermatozoenmotilität erscheint also von ganz wesentlicher Bedeutung bei der Therapie von Fertilitätsstörungen, da die Propulsivbeweglichkeit der Spermatozoen das wesentlichste Kriterium für die Beurteilung eines Ejakulates hinsichtlich seiner Befruchtungsfähigkeit darstellt (123).

Der Prozentsatz von beweglichen Spermatozoen ist bei fertilen Männern zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr altersunabhängig. Nach dem 40. Lebensjahr nimmt jedoch die Qualität der Motilität signifikant ab (80).

2.2.3. MOTILITÄT IM MÄNNLICHEN GENITALTRAKT

2.2.3.1. MOTILITÄT IM NEBENHODEN

Während ihrer Entwicklung im Hoden und Nebenhoden zeigen die heranreifenden Spermatozoen noch keine eigene Motilität: Der Transport in den Nebenhoden erfolgt passiv durch Flüssigkeitsstrom, Mikrokontraktion und Zilienaktivität entlang des Ductus efferens.

Im Nebenhoden werden die Spermatozoen morphologisch und biochemisch verändert, wodurch sie schließlich bewegungs- und befruchtungsfähig werden (51). Die ausgereiften Spermatozoen verweilen dann im Nebenhodenschwanz einige Zeit - ca. 10 bis 14 Tage - in einem Ruhezustand, der durch fehlende Motilität und eine sehr niedrige Metabolismusrate gekennzeichnet ist. Dadurch wird es den Spermatozoen überhaupt erst möglich, diesen relativ langen Aufenthalt funktionell intakt zu überstehen (6, 35, 93, 94, 97, 119, 120, 170, 171).

Der Nebenhoden sorgt sowohl für die Sekrete als auch für eine ausreichende Zeitspanne, die unreife Spermatozoen aus dem Hoden benötigen, um sich zu reifen, befruchtungsfähigen Zellen entwickeln zu können.

Während der Passage des Nebenhodenkanals erlangen Spermatozoen die Fähigkeit, sich progressiv vorwärtsbewegen zu können - eine Grundvoraussetzung zur späteren Überwindung der Cervix- und der uterotubalen Barriere. Dies geschieht vorwiegend durch eine modifizierte intrazelluläre Zusammensetzung im Spermatozoon, zu welcher der Nebenhoden durch Erhöhung bzw. Herabsetzung bestimmter Ionen und Cofaktoren beiträgt (19).

Untersucht man Spermatozoen aus den verschiedenen Segmenten des menschlichen Nebenhodens, so lassen sich unterschiedliche Motilitätsmuster erkennen (39). Spermatozoen aus dem Nebenhodenkopf führen kräftige, wild peitschende Schwanzbewegungen ohne größeren Raumgewinn aus. Die Fähigkeit zur schnell raumgewinnenden Propulsivbewegung erlangen die Spermatozoen erst in der Mitte des Nebenhodens, wohl durch eine Reduktion der Flexibilität des Schwanzes. Neuere Untersuchungen an Bullenspermien stellten die bemerkenswerte Ähnlichkeit des Bewegungsmusters im Nebenhodenkopf mit der hyperaktivierten "Whiplash"-Bewegung heraus, wobei der kontinuierliche Übergang in die Propulsivbewegung mittels Zeitraffer-Kinemikrographie analysiert wurde (1). Der Entwicklungsprozeß im Nebenhoden würde somit einen spiegelbildlichen Vorgang zum Hyperaktivierungsprozeß während der Befruchtung im Eileiter darstellen (151).

Zu den motilitätsfördernden Cofaktoren zu rechnen sind Carnitin (52), das Acidic Epididymal Glycoprotein (AEG) (74) und vor allem das Forward Motility Protein (FMP). Die Sekretion des FMP im Nebenhoden konnte man zwar noch nicht sicher nachweisen, doch deutet eine reduzierte FMP-Aktivität im Seminalplasma vasektomierter Affen auf seinen epididymalen Ursprung hin (1). Die Wirkung des Forward Motility Protein beruht wohl zum Großteil auf einer Reduktion des intrazellulären Ca^{2+} -Spiegels, der durch verstärkten Ionenflux durch die Spermatozoenmembran zustande kommt (59).

Bemerkenswert ist ferner die Erkenntnis, daß erst die Spermatozoen aus dem Nebenhodenschwanzbereich befruchtungsfähig sind, die aus dem Nebenhodenkopf- und -körperbereich dagegen noch nicht. Auch muß ein normales Bewegungsmuster nicht immer mit einer positiven Befruchtungsfähigkeit übereinstimmen.

2.2.3.2. MOTILITÄT ZUM ZEITPUNKT DER EJAKULATION

Das Einsetzen der Spermatozoen-Motilität (Initiation) erfolgt zum Zeitpunkt der Ejakulation. Sofort beginnen die Spermatozoen mit ihrer charakteristischen Propulsivbewegung, d.h. sie zeigen eine starke Vorwärtsbewegung bei relativ kleiner Amplitude ihrer

Schwanzbewegung. Die auslösenden Faktoren für die plötzliche Initiation der Motilität nach der Ejakulation sind bisher so gut wie nicht erforscht. Allerdings gibt es etliche Hypothesen, die einige damit zusammenhängende Fakten erklären können (89, 116).

So dürfte beispielsweise die plötzliche Reduktion des räumlichen Kontaktes der vorher dicht gepackten Samenzellen eine wesentliche Rolle spielen. Große Bedeutung mißt man der abnehmenden Osmolarität des Seminalplasmas im Vergleich zur Nebenhodenflüssigkeit bei, genauso wie dem Zusatz verstoffwechselbarer Substrate, die durch die Beimischung der Sekrete der akzessorischen Drüsen (Prostata, Bläschendrüsen etc.) zustandekommen. Weiterhin wird die Umstellung vom anaeroben zum aeroben Stoffwechsel als Initiator der Motilität diskutiert.

2.2.3.3. MOTILITÄT IM SEMINALPLASMA

Für das Einsetzen der Motilität und die erste Phase der Spermatozoenmigration dürfte die Beschaffenheit des Seminalplasma eine entscheidende Rolle spielen. Es macht ca. 95 % des gesamten Ejakulatvolumens aus und bietet den Spermatozoen reichliche Energievorräte an. Insbesondere aber enthält es Faktoren, die die Spermatozoen gegen das saure Milieu des Vaginalsekretes schützen.

Das Seminalplasma setzt sich zusammen aus den Sekreten der Prostata (max. 30 % des Ejakulatvolumens), der Bläschendrüsen (ca. 40 %), der Nebenhoden, der Ductus deferentes und der Cowperschen Drüsen. Die Motilität und die Vitalität der Spermatozoen sind von einem optimalen Verhältnis zwischen den Sekreten der Prostata und der Bläschendrüsen abhängig.

Das Sekret der Bläschendrüsen enthält Faktoren, die die Motilität und Vitalität der Spermatozoen beeinträchtigen. Andererseits wird die Motilität durch das Sekret der Prostata stimuliert. Im Kontakt mit dem Prostatasekret können sich die Spermatozoen gegen die negativen Einflüsse des Sekretes der Bläschendrüsen schützen (28). Abgesehen davon bleibt die biochemische Zusammensetzung des Seminalplasmas bei jedem Individuum relativ konstant und ist von

der Frequenz der Ejakulationen nicht abhängig (26).

Die biochemische Natur des motilitätssteigernden Faktors des Prostatasekretes ist bis heute nicht aufgeklärt. Da die Mehrzahl der Spermatozoen, wenn sie fraktioniert aufgefangen werden (Split-Ejakulat-Technik), mit der ersten Spermafraktion ejakuliert wird und diese zum größeren Teil aus Prostatasekret besteht, weisen in dieser Fraktion die Spermatozoen eine bessere Motilität und Vitalität bzw. eine höhere Überlebensfähigkeit auf, als in der zuletzt ejakulierten Spermafraktion. Im Einklang mit diesen Befunden steht die Beobachtung, daß eine Entzündung der Prostata und ein dadurch erhöhter pH-Wert (über 8.0), sowie ein erniedrigter Zinkspiegel (unter 15 mg/dl) zu einer Motilitätseinschränkung führen können. Bei Patienten mit krankhaften Veränderungen der Bläschendrüsen (zum Beispiel bei erniedrigtem Fruktosespiegel) hingegen kommt es sogar zu einer Verbesserung der Motilität.

In letzter Zeit wurde auf die Abhängigkeit der Spermatozoen-Motilität von einem im Seminalplasma nachgewiesenen Glykoprotein aufmerksam gemacht. Dieses in der Gelelektrophorese schnell wandernde Glykoprotein (Bande Rf 0.67) konnte nämlich nur bei normalen Ejakulaten nachgewiesen werden, wohingegen es bei Patienten mit Asthenozoospermie (herabgesetzte Motilität bei normaler Morphologie und normaler Spermatozoenzahl), die sonst keine weiteren klinischen Symptome aufwiesen, stark vermindert war beziehungsweise fehlte (67). Da man das Glykoprotein auch in der Flüssigkeit von Spermatozelen fand, wird es vermutlich von Hoden oder Nebenhoden sezerniert; ferner diskutiert man aber auch eine Sekretion von der Prostata (67).

Mit dem Seminalplasma hochwertiger Ejakulate kann man Spermatozoen mit reduzierter Motilität stimulieren. Andererseits kann Seminalplasma aus Ejakulaten mit geringer Motilität die Qualität gut beweglicher Spermatozoen beeinträchtigen. Diese Erkenntnis wurde klinisch bereits erfolgreich angewandt: Bei 5 von 16 infertilen Patienten mit schlechten Spermaparametern wurde eine Schwangerschaft ermöglicht, nachdem ihre Spermatozoen mit Seminalplasma normaler Ejakulate vermischt worden waren (118).

Man vermutet, daß Spermaproben mit eingeschränkter Motilität sowohl einen Mangel an motilitätserhaltenden Faktoren aufweisen, als auch Komponenten enthalten, die der Beweglichkeit schaden. So können bestimmte Seminalplasmaproben den Stoffwechsel der Spermatozoen in vitro unterdrücken (81). Mehrfach konnten Anti-Spermatozoen-Antikörper im Seminalplasma nachgewiesen werden, die durch die Bildung von Immunkomplexen zu einer reduzierten Motilität führen. Durch mehrfaches Auswaschen dieser Antikörper aus dem Seminalplasma konnte in einem von sieben Fällen eine Schwangerschaft nach vorheriger Infertilität erzielt werden (139).

2.2.4. MOTILITÄT IM WEIBLICHEN GENITALTRAKT

2.2.4.1. MOTILITÄT IN DER VAGINA

Nach der Ejakulation in die Vagina kommen die Spermatozoen mit den weiblichen Genitalsekreten in Kontakt. Es ist bisher wenig über die Spermatozoen-Motilität unmittelbar nach Deposition in die Vagina bei normalem Geschlechtsverkehr bekannt. Untersucht man den vaginalen Spermapool nahe der hinteren Fornix unmittelbar nach der Ejakulation, so haben die Spermatozoen dort ihre volle Motilität entwickelt. Doch das vaginale Sekret übt einen hemmenden bzw. einen schädigenden Einfluß auf die Spermatozoenvitalität und -motilität aus. Wesentlich ist dabei das saure Milieu der Vagina mit einem pH-Wert von 3.4 bis 5.0, das die Spermatozoen immobilisiert und relativ schnell abtötet. Aber möglicherweise beeinflussen darüberhinaus noch andere Faktoren des vaginalen Milieus die Spermatozoenfunktionen und somit die progressive Motilität.

Bereits 90 Minuten nach der Ejakulation ist ein hoher Prozentsatz der Spermatozoen in der Vagina schwanzlos (82), wodurch diese Zellen unbeweglich werden. Der Schwanzverlust der Samenzellen im vaginalen Milieu ist bei einigen Individuen ausgeprägter, bei anderen kann er fehlen. Dies ist ein weiterer Hinweis für die spermenschädigende Wirkung des vaginalen Milieus.

2.2.4.2. MOTILITÄT IM ZERVIXMUKUS

Im Gegensatz zum Vaginalmilieu ist das Milieu der Cervix uteri ausgesprochen spermatozoenfreundlich. Hier finden die Spermatozoen, ebenso wie in Uterus und Eileiter, weit bessere Bedingungen, um über lange Zeit vital und motil bleiben zu können. Hauptsächlich zu verdanken ist dies dem alkalischen Milieu des Zervixmukus, dessen pH-Wert zwischen 7 und 8.5 liegt. Denn genau in diesem Bereich liegen die Bedingungen für eine optimale Spermatozoen-Motilität und -Vitalität (91).

Das Muster der Spermatozoen-Migration im Zervixmukus ist je nach Stadium des Menstruationszyklus unterschiedlich: Vor und nach der Menstruation können die Samenzellen nicht in den Zervixmukus eindringen. Im Gegensatz dazu dringen Spermatozoen in den ovulatorischen Zervixmukus rasch ein. Dabei beobachtet man in vitro das Phalanxphänomen, das durch sog. Pionierspermatozoen verursacht wird (8). Am schnellsten erfolgt die Spermatozoen-Migration in dünnem wässrigem Zervixmukus, der eine gute Spinnbarkeit aufweist. Um 3 cm periovulatorischen Zervixmukus zu durchdringen, benötigen die Spermatozoen ca. 15 Minuten (47).

Das Eindringen der Spermatozoen aus dem ungünstigen Vaginalmilieu in den spermienfreundlichen Zervixmukus wird in der periovulatorischen Menstruationsphase durch folgende Mechanismen gefördert (60): Da in diesem Zeitraum der Zervixmukus eine erhebliche Spinnbarkeit aufweist, hängt der Mukus vom Os externum wie eine Leiter in die Vagina herab ("ladder action"). Spermatozoen, die während oder nach der Ejakulation Kontakt mit dieser Leiter bekommen, bleiben durch die adhäsiven Eigenschaften des Mukus dort haften ("lime action"), dringen in ihn ein und wandern diese "Leiter" entlang, bis sie das Cavum uteri erreichen. Außerdem werden zum periovulatorischen Termin Os externum und Zervixkanal erweitert und gelockert ("loosening action"), wobei das Volumen des Zervixmukus deutlich zunimmt. Diese Veränderungen erleichtern die Spermatozoen-Migration durch den Gebärmutterhals.

Der Zervixmukus hat zusätzlich folgende wichtige Funktionen wahrzunehmen (60):

- Energieversorgung der Spermatozoen mit Glukose, Galaktose u.a.;
- Biologische Filterfunktion, um überwiegend normal konfigurierte Spermatozoen penetrieren zu lassen;
- Spermatozoenspeicherung;
- Möglicher Ort, an dem die Kapazitation der Spermatozoen stattfindet;
- Reservoir für den Spermatozoentransport im weiblichen Genitaltrakt.

Die Konsistenz des Zervixmukus bestimmt das Motilitätsmuster der Spermatozoen. Im dünnflüssigen periovulatorischen Mukus zeigen die Spermatozoen eine kräftige Progressiv-Motilität mit einer deutlichen Reduktion der Schwanzamplitude und Kopfrotation. Im Gegensatz dazu nimmt die Geschwindigkeit der Spermatozoen im hochviskösen Mukus ab oder wird vollständig gehemmt. Die Schwänze zeigen dabei Kreisbewegungen (47).

Die Zahl der Spermatozoen im Mukus nimmt mit zunehmender Distanz von der Ejakulat-Mukus-Grenze ab. Anscheinend verfügen also nicht alle Spermatozoen über den gleichen Energievorrat für ihre Motilität. Auch unter optimalen Bedingungen hinsichtlich Spermatozoen-Motilität und Zervixmukus-Qualität gelingt es weniger als 1:100, oft nur 1.1000 bis 1:2000 der motilen Spermatozoen, die Barriere des Zervixmukus zu durchdringen (47).

2.2.4.3. MOTILITÄT IN UTERUS UND TUBEN

Nach der Zervixpassage gelangen die Spermatozoen in das intrauterine Milieu. Bisher weiß man noch wenig über dessen Einflüsse auf die Spermatozoen-Motilität. Jedoch können die verschiedenen Sekrete des weiblichen Genitaltraktes das Motilitätsmuster verändern. So läßt sich zum Beispiel die Geschwindigkeit der Spermatozoen in Anwesenheit der Sekrete der Tuben, der Hydrosalpinx und des Peritoneums steigern. Außerdem wird die Motilität und Überlebensrate gewaschener Spermatozoen durch menschliche Follikel-

flüssigkeit signifikant erhöht (49).

Ein weiteres Hindernis für die Wanderung der Spermatozoen im weiblichen Genitaltrakt stellt der Eingang in die Eileiter dar. Nur 1:5000 der Spermatozoen, die im Zervixmukus enthalten sind, können bis zum Eileiter vordringen. Betrachtet man den Gesamtweg der Spermatozoen durch den weiblichen Genitaltrakt, so erreichen nur 1:14 Millionen der inseminierten Spermatozoen einen der beiden Eileiter (138). Von den hunderten von Millionen der Spermatozoen erreichen auf diese Weise maximal 100 die Eizelle, und von diesen gelingt es dann nur einer oder höchstens wenigen, die Oozyte zu befruchten (89).

Außer durch die Eigenbeweglichkeit der Spermatozoen wird die Spermatozoen-Migration zusätzlich durch andere Mechanismen gefördert, wie z.B. die muskuläre Kontraktibilität und die Zilien-Bewegung des Epithels des weiblichen Genitaltraktes. Die Bewegung der Spermien aus eigenem Antrieb ist jedoch hauptsächlich verantwortlich für ihre Wanderung über Vagina, Zervix und Uteruskavum bis hin zu den Tuben. Von besonderer Bedeutung ist sie bei der Penetration des Cumulus oophorus, der Corona radiata und der Zona pellucida der Oocyte.

Die endogenen und exogenen Faktoren, die Einfluß auf die Motilität der Spermatozoen haben, sind in Abb. 2 zusammengefaßt.

2.2.5. ENERGIEVERSORGUNG DER SPERMATOZOEN

Die Spermatozoen-Motilität ist von einer dauerhaften Energieversorgung abhängig. Vor der Ejakulation werden vor allem Glukose und Fruktose als Energiequellen verbraucht. Nach der Ejakulation steht den Spermatozoen zunächst überwiegend Fruktose aus dem Seminalplasma zur Verfügung, auf ihrem weiteren Weg durch Uterus und Eileiter hauptsächlich die dort vorhandene Glukose.

Die Glukose bzw. Fruktose wird in die Zelle aufgenommen und mit Hilfe des Enzyms Hexokinase in den Glykolyse-Weg eingeschleust. Das bei der Glykolyse entstehende Pyruvat wird in Acetyl-CoA um-

gewandelt und als Substrat in den Citratzyklus eingeschleust, der in den Mitochondrien stattfindet. Hierbei wird in mehreren Schritten durch oxidative Phosphorylierung weiteres ATP gebildet. Zur Aufrechterhaltung der Spermatozoen-Motilität muß immer ein ausreichender ATP-Pool als Energiequelle vorhanden sein. Durch einen chemo-mechanischen Transduktionsprozeß wird aus ATP mittels enzymatischer Hydrolyse Energie gewonnen, die dann zur Kontraktion der fibrillären Strukturen von Mittelstück und Schwanz führt. Auf diese Weise kann die Propulsivbewegung der Spermatozoen aufrechterhalten werden.

Endogene Faktoren

- (1) Alter
 - Lagerung im Nebenhoden
 - Alter des Spenders
 - Zeitspanne zwischen Ejakulation und Befruchtung
 - Frequenz der Ejakulationen
- (2) Reifung
 - Morphologisch
 - Physiologisch
 - Biochemisch
- (3) Energiequelle (ATP)
 - Membran-Transport
 - Ionen-Transport
 - Flagellare Bewegung
 - Kontraktile Proteine
- (4) "Surface and surface-active agents"
 - Agglutinierende Faktoren
 - Antikörper
 - Detergentien
 - Membran-Integrität
 - Rezeptoren

Exogene Faktoren

- (1) Biophysikalische und physiologische Faktoren
 - Hydrodynamik
 - Viskosität
 - Osmolarität
 - pH
 - Temperatur
 - Ionen-Komposition
- (2) Sekrete
 - Nebenhoden-Flüssigkeit
 - Seminalplasma
 - Vaginales Milieu
 - Zervixmukus
 - Uterine Flüssigkeit
 - Eileitersekret
 - Perivitelliner Raum
- (3) Stimulation und Hemmung
 - Anorganische Ionen (Cu, Zn, Cd, Mn, Hg u.a.)
 - Exkretorische Produkte
 - Neuropharmaka
 - Hormone
 - Zyklische Nukleotide
 - Kinine
 - Prostaglandine
 - Umwelttoxische Produkte
 - Immunochemische Faktoren

Abb. 2: Zusammenstellung endogener und exogener Faktoren, durch welche die Motilität der Spermatozoen beeinflusst wird (modifiziert nach (89))

2.2.6. DIE BEDEUTUNG TRANSMEMBRANÄRER IONENTRANSPORT-PROZESSE

2.2.6.1. KALZIUM-TRANSPORT DURCH DIE SPERMATOZOEN-MEMBRAN

Die energieverbrauchenden Prozesse im Spermatozoon dienen dem Zweck, chemische Energie (ATP) in mechanische Energie umzuwandeln, um so die Fähigkeit zur Eigenbeweglichkeit zu erlangen. Diese Vorgänge können jedoch nur bei einer bestimmten intrazellulären Kalzium-Konzentration ablaufen, die durch eine Kalzium-Pumpe und ein Natrium-Kalzium-Antiportsystem aufrechterhalten wird (10). Freie Kalzium-Ionen im Seminalplasma jedoch hemmen die Motilität menschlicher Spermatozoen deutlich (152). Aus diesem Grund muß ihre Konzentration sowohl durch kalziumbindende Substanzen als auch durch Kalziumtransporthemmer im Seminalplasma niedrig gehalten werden.

2.2.6.2. DAS KALZIUM-BINDENDE REGULATORPROTEIN CALMODULIN

Bei der Limitierung der motilitätshemmenden freien Ca^{2+} -Ionen im Seminalplasma fällt dem Regulatorprotein Calmodulin eine ganz entscheidende Aufgabe zu, denn jedes Molekül dieses Proteins kann bis zu 4 Ca^{2+} -Ionen binden. Neuere Untersuchungen zeigten, daß eine symmetrische, vorwärtsgerichtete Bewegung des Spermatozoenschwanzes bei Seeigeln von der Calmodulin-Konzentration abhängt und Calmodulin offenbar den Kalzium-Effekt reguliert (11).

Ein dem Calmodulin sehr ähnliches, vielleicht mit ihm identisches Protein, das Calsemin, wurde aus dem Seminalplasma isoliert und für die Aufrechterhaltung der Motilität verantwortlich gemacht. Es könnte eine zunehmende Impermeabilität der ejakulierten Spermatozoen für Kalzium bewirken, indem es mit der Ca^{2+} -ATPase der Spermatozoenmembran reagiert, die Kalziumkonzentration im Spermatozoon herabsetzt und so zu einer koordinierten Schwanzbewegung führt (10).

Die biologische Interpretation des intrazellulären Calmodulin-Spiegels ist noch lange nicht geklärt. Eine niedrige Calmodulin-Konzentration in den Spermatozoen bewirkt neben einer mangel-

haften Zellfunktion auch morphologische Anomalien. Die Zahl mißgebildeter Spermatozoen ist in Ejakulaten mit erniedrigtem intrazellulärem Calmodulin-Gehalt nämlich signifikant höher als in normalen Ejakulaten (104).

2.2.6.3. REZEPTOREN DER SPERMATOZOEN-MEMBRAN

Eine genaue Analyse der verschiedenen Rezeptoren der Spermatozoenmembran gibt es bis heute noch nicht. In einigen Fällen ließen sich aber Versuchsergebnisse praktisch nur durch die Hemmung membrangebundener Ionentransportprozesse erklären und weisen daher auf die Existenz solcher Rezeptoren hin.

Die Cholinrezeptor-Blocker Succinylcholin, Atropin und Decamethonium bewirkten in niedrigen Konzentrationen eine Stimulation der Spermatozoen-Motilität, in hohen Konzentrationen hingegen eine Hemmung (99). Dies kann an sich nur bedeuten, daß die Erkennung und die Reaktion auf diese Substanzen über Rezeptoren der Spermatozoenmembran abläuft.

Einen weiteren Hinweis für die Existenz von Rezeptoren an der Spermatozoenmembran liefern auch die Resultate, daß Propranolol, ein klinisch weitverbreiteter beta-Rezeptorblocker, eine drastische Hemmung der Spermatozoen-Motilität bewirkt (156). Über die Wirkungsweise der beta-Rezeptoren im menschlichen Organismus herrscht heute zwar weitgehend Klarheit, Untersuchungen an der Spermatozoenmembran aber fanden bisher noch nicht statt.

Membranständige Ionentransportprozesse im Spermatozoon finden sicherlich in vielfältiger Weise statt. Wir wollten einige dieser Vorgänge untersuchen, da sich durch die Beeinflussung des transmembranären Ionentransportes höchstwahrscheinlich Möglichkeiten zur Inhibition, aber auch zur Steigerung der Spermatozoen-Motilität ergeben.

Für unsere Belange untersuchten wir den Calmodulin-Antagonisten Trifluoperazin, den Acetylcholin-Rezeptor-Blocker alpha-Bungarotoxin und die dopaminergen Pharmaka Bromocriptin und Lisurid-Maleinsäure, die als alpha-Rezeptor-Blocker agieren.

2.3. DER EINFLUSS DES KALLIKREIN-KININ- UND DES RENIN-ANGIOTENSIN-SYSTEMS AUF DIE MOTILITÄT MENSCHLICHER SPERMATOZOEN

Einen Einfluß des Kallikrein-Kinin Systems auf den Energiestoffwechsel und somit auch auf die Motilität der Spermatozoen bestätigten in den letzten Jahren zahlreiche Autoren. Schill und Haberland konnten im Jahre 1974 nachweisen, daß durch Kallikreingaben sowohl die quantitative, als auch die qualitative Spermatozoenbeweglichkeit (Propulsion) verbessert werden kann (123, 124, 125). Kurz darauf demonstrierte Wallner den Zusammenhang zwischen der Spermatozoenmotilität und der Zervixmukuspenetration (162), die in Gegenwart von Kallikrein signifikant anstieg (109). Seither konnte der fördernde Einfluß von Kallikrein und Kininen auf die Spermaqualität (Spermatozoenzahl und -motilität) sowohl in vitro häufig nachgewiesen, als auch in vivo bei infertilen Patienten therapeutisch angewandt werden (133).

Die molekularen Mechanismen, über die das Kallikrein-Kinin System und das Renin-Angiotensin System auf die Fertilität des Mannes einwirken, sind bis heute noch nicht detailliert erforscht worden. Die auffallend hohen Aktivitäten der Schlüsselenzyme beider Systeme im Seminalplasma, wie z.B. von Renin (20) und Angiotensin-Converting-Enzyme (53, 54, 101), und auch die klinischen Erfolge bei ihrer therapeutischen Anwendung bestätigen aber den wichtigen Stellenwert dieser Stoffwechsel-Systeme auf die Motilität der Spermatozoen.

Das Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) ist wahrscheinlich der wichtigste physiologische Regulator der biologisch aktiven Peptide des Kallikrein-Kinin Systems und des Renin-Angiotensin Systems. Aber auch durch Kallikrein, das aus dem Prorenin Renin (61) und aus inaktiven Kininogenen aktive Kinine freisetzt (30), erfahren diese beiden Systeme eine Verknüpfung.

2.3.1. PHYSIOLOGISCHE BEDEUTUNG DES KALLIKREIN-KININ SYSTEMS (KKS) UND DES RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEMS (RAS)

2.3.1.1. DAS RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM (RAS)

Schon Ende des letzten Jahrhunderts entdeckte man die blutdrucksteigernde Wirkung eines Extraktes aus Nierengewebe (153) und nannte die dafür verantwortliche Komponente "Renin". Später zeigte sich, daß dieses Renin ein Enzym ist, das die Umwandlung von Angiotensinogen, einem biologisch unwirksamen Polypeptid, in das biologisch aktive Dekapeptid Angiotensin I bewirkt (96). Angiotensin I nun kann durch ein weiteres Enzym in das Oktapeptid Angiotensin II transformiert werden (142), weswegen man dieses als Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) bezeichnete.

Skeggs analysierte in den fünfziger Jahren die Aminosäuresequenzen dieser einzelnen Peptide (143, 144) und fand heraus, daß aus Angiotensin I durch die C-terminale Abspaltung eines Histidyl-Leucin-Restes Angiotensin II entsteht (siehe Abb. 3). Dieses Angiotensin II wurde später als hochaktiver Vasokonstriktor identifiziert (48).

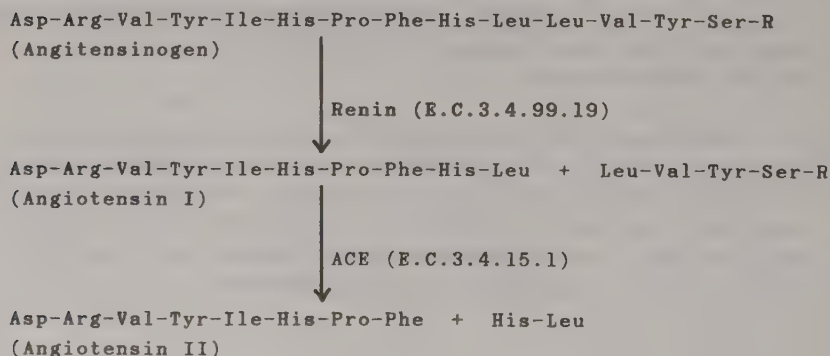


Abb. 3: Das Renin-Angiotensin System (nach Skeggs, 1955)

Heute wissen wir, daß Angiotensin II der stärkste Vasokonstriktor des gesamten Organismus ist. Angiotensin I kann aber durch das Enzym Angiotensinase A in ein Nonapeptid (Asp-Angiotensin I) umgewandelt werden, das dann durch das Angiotensin-Converting-Enzyme zum Heptapeptid Angiotensin III transformiert wird. Angiotensin III kann zudem auch direkt aus Angiotensin II entstehen.

Eine weitere Regulation erfährt das Renin-Angiotensin System durch Kallikrein, indem es Prorenin in Renin umwandelt (61).

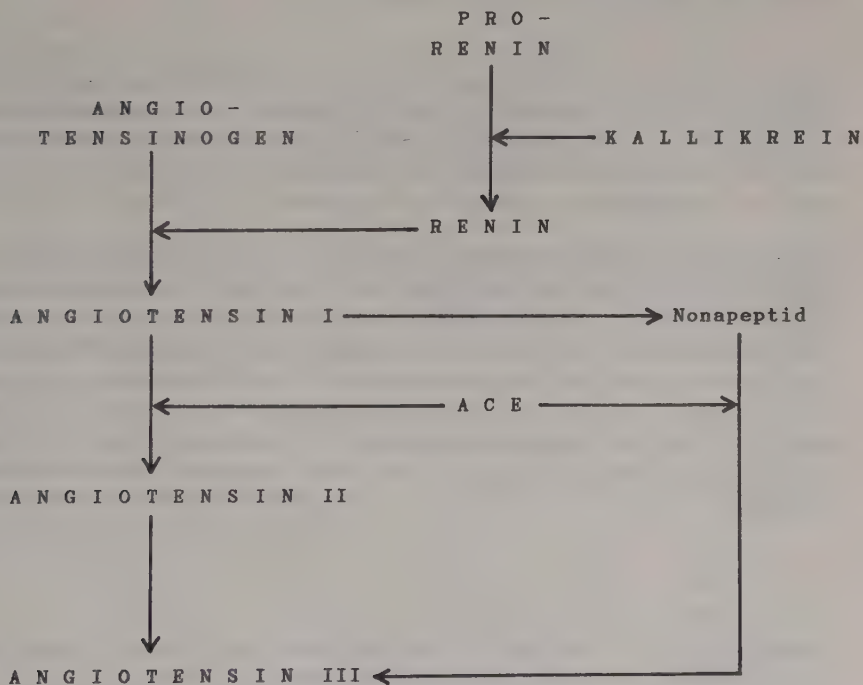


Abb. 4: Die Komponenten des Renin-Angiotensin Systems und ihre Interaktionen

2.3.1.2. DAS KALLIKREIN-KININ SYSTEM (KKS)

Das wichtigste Enzym des Kallikrein-Kinin Systems, das Kallikrein, wurde 1925 entdeckt (36). Es konnte durch Extraktion aus Pankreasgewebe angereichert und in weiterer Folge rein dargestellt werden. Seine gefäßerweiternden Eigenschaften machte man sich bald bei der Therapie von Bluthochdruck und Durchblutungsstörungen zunutze und brachte es bereits fünf Jahre später unter dem Namen Padutin^R auf den Markt. 1937 konnte gezeigt werden, daß Kallikrein aus einer Vorstufe, dem Präkallikrein, durch Abspaltung eines Proteinrestes gebildet wird (164).

Erst Anfang der 60er Jahre isolierte man das Peptid Kallidin (166), das durch Einwirkung von Kallikrein auf Serum aus einer inaktiven Vorstufe gebildet wird und das für die Vasodilatation verantwortlich ist. Daraus schloß man, daß in vivo die wichtigste Funktion des Kallikreins ist, aus dem alpha-2-Globulin Kallidinogen das kreislaufaktive Kallidin zu bilden.

Ein dem Kallidin sehr ähnliches Peptid, das Bradykinin (115), zeigte gleichfalls antihypertensive Wirkungen. Man entdeckte in den folgenden Jahren noch weitere Peptide mit ähnlicher Struktur und Wirkungsweise und faßte sie daraufhin als "Kinine" zusammen. Ihre Vorstufen nannte man "Kininogene", die sie bildenden Enzyme "Kallikreine" und die sie abbauenden Enzyme "Kininasen" (s. auch Abb. 7). Als die Aminosäuresequenzen der einzelnen Kinine analysiert waren, bestätigte sich ihre enge chemische Verwandtschaft (Abb. 5):

Met-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg	Methionylkallidin
Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg	Kallidin
Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg	Bradykinin

Abb. 5: Die drei wichtigsten Kinine (nach Werle, 1973)

Die Kallikreine sind Enzyme, sog. "Kininogenasen", die von Kininogenen Kinine abspalten (Abb. 7). Man teilt sie in unspezifische und spezifische Kininogenasen ein:

- | | | |
|------------------------------|---------------------------------|-----------------|
| unspezifische Kininogenasen: | - Trypsin | (E.C.3.4.4.4) |
| | - Plasmin | (E.C.3.4.4.14) |
| | - Akrosin | (E.C.3.4.21.10) |
| | - Kathepsin D | (E.C.3.4.23.5) |
| spezifische Kininogenasen: | - Organ- oder Gewebeskallikrein | (E.C.3.4.21.8) |
| | - Plasmakallikrein | (E.C.3.4.21.34) |

Plasma- und Gewebeskallikreine setzen dabei jeweils unterschiedliche Substrate um. Die im Plasma vorkommenden Kallikreine haben ein Molekulargewicht von 100.000, hydrolysieren Lysyl-Arginyl-Bindungen von HMW-(heavy-molecular-weight) Kininogenen und bilden dabei Bradykinin.

Gewebeskallikreine, die in Pankreas, Speicheldrüsen, Darm und Niere vorkommen, haben ein Molekulargewicht von 27.000 bis 35.000. Sie spalten die Methionyl-Lysyl-Bindungen der LMW-(light-molecular-weight) Kininogene, wodurch Kallidin entsteht (30, Abb. 6):

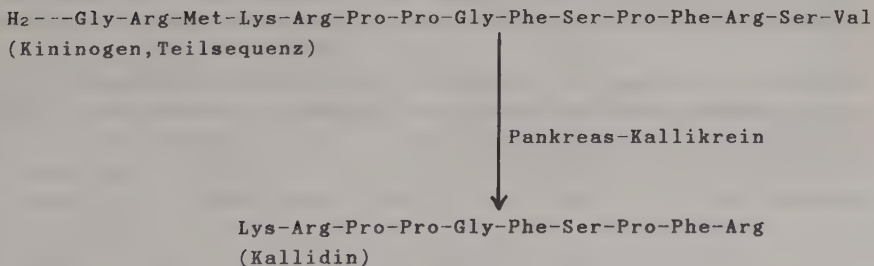


Abb. 6: Darstellung von Kallidin aus Kininogen

Kallikreine entstehen durch Hydrolyse der inaktiven Vorstufe Präkallikrein. Während Gewebs-Kallikrein durch Spaltung des Präkallikreins mit Trypsin entsteht, wird das Plasma-Kallikrein durch Spaltung des Präkallikreins mit dem Hageman-Faktor (Faktor XII des Blutgerinnungs-Systems) gebildet. Dieser Hageman-Faktor wird durch Präkallikrein und Kininogene aktiviert und durch Kininabbauprodukte, die histidinreiche Polypeptide sind, gehemmt.

Die Kinine sind die eigentlichen Effektoren des Kallikrein-Kinin-Systems. Ihre Hauptvertreter Bradykinin, Kallidin und Methionyl-Kallidin erweisen sich als hochaktive Peptide mit in vivo sehr kurzen Halbwertszeiten von ca. 45 Sekunden. Ihre funktionellen Eigenschaften wurden mit Hilfe von Pankreas-Kallikrein (Padutin®) charakterisiert.

Auf den gefäßerweiternden Effekt der Kinine wurde bereits hingewiesen. Deshalb sind sie antihypertensiv wirksam. Man konnte diesen Effekt in der Haut (165), im Muskel (37), im Gehirn (37) und im Mesenterium (95) nachweisen und konnte ihn auf die durch Kinine bewirkte Prostaglandin-Freisetzung im Gefäßendothel zurückführen.

Die Kinine bewirken eine Beschleunigung des Blutstroms (100), was zu einer verbesserten Versorgung der Gewebe führt.

Sie erhöhen die Aufnahme von Glukose (87), aber auch von Aminosäuren, Nukleotiden (95), Wasser und Elektrolyten (23) durch die Gewebe.

Schließlich muß man noch erwähnen, daß nach Kallikreingaben eine Steigerung der Zellproliferation beobachtet werden konnte (112, 114).

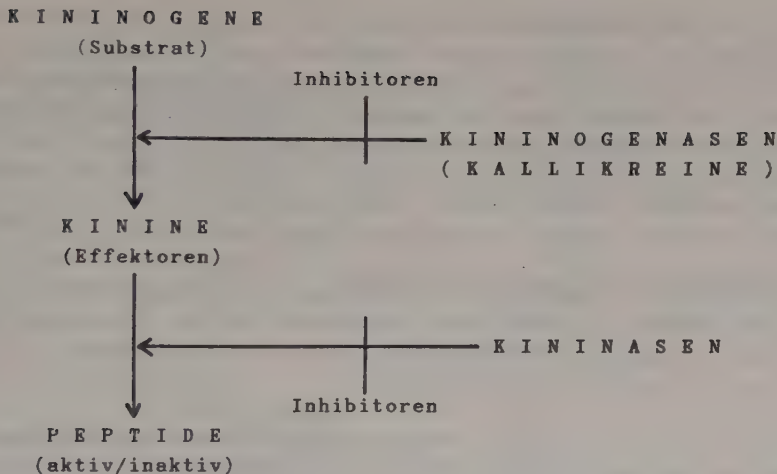


Abb. 7: Die Bestandteile des Kallikrein-Kinin Systems und ihre Interaktionen

2.3.1.3. DIE SCHLÜSSELROLLE DES ANGIOTENSIN-CONVERTING-ENZYME IN BEIDEN SYSTEMEN

Im Jahre 1965 beobachtete Ferreira (32), daß verschiedene Peptide des Giftes der Viper *Bothrops jaraca* die Aktivität von Bradykinin erhöhen, indem sie die Aktivität der Bradykininase hemmen. Drei Jahre später zeigte sich, daß dieses Schlangengift auch die Aktivität des ACE inhibiert (5). Weitere Untersuchungen ergaben schließlich, daß die Bradykininase und ACE die gleichen Substrate umsetzen und somit identische Enzyme sind. Das bedeutet, daß ACE nicht nur im Renin-Angiotensin System, sondern auch im Kallikrein-Kinin System eine regulatorische Funktion hat.

Das Angiotensin-Converting-Enzyme ist bei den Säugetieren als spezifische membranständige Komponente der Endothelzellen (13) und in anderen Geweben, wie zum Beispiel dem Parenchym der Niere (101, 145) nachweisbar. Es besteht aus einer Polypeptidkette mit zahlreichen Oligosaccharidsequenzen. ACE ist ein Metalloprotein, das Zink kovalent gebunden enthält, wobei ein Mol ACE ein Mol Zink enthält. Dieses Metall kann durch andere zweiwertige Kationen ersetzt werden, zum Beispiel durch Kobalt (145).

Die höchsten ACE-Aktivitäten fand man in der Lunge (44, 101) und in den Geweben von Hoden und Nebenhoden (22, 55). Geringere Aktivitäten zeigten die Gewebe des Gastrointestinaltraktes und der Niere bei fast allen Species (101).

Auch im Blutserum konnten nennenswerte ACE-Aktivitäten nachgewiesen werden, die bei verschiedenen Krankheitsbildern pathologisch erhöht oder erniedrigt sind (135). Patienten mit Lungensarkoidose (3), Lepra, Morbus Gaucher, akuter Virushepatitis und Leberzirrhose haben höhere ACE-Aktivitäten als Gesunde. Erniedrigte ACE-Werte dagegen findet man bei Lungentuberkulose, Lungenfibrose, beim Bronchialkarzinom, bei Bronchialasthma sowie bei der Schocklunge (75, 135, 140, 141).

Bei manchen Formen der Hypertonie konnte man erhöhte ACE-Aktivitäten nachweisen. Durch die Zunahme der ACE-Aktivität steigt der Blutdruck an, da zweierlei Mechanismen in Gang kommen: zum einen wird vermehrt Angiotensin II gebildet, der stärkste Vasokonstriktor des Organismus, zum anderen werden aber auch vasodilatorisch wirksame Kinine abgebaut. Die Therapie solcher Hypertonieformen kann kausal durch Captopril (Lopirin^R) und eine Reihe ähnlich wirkender Pharmaka erfolgen, da alle diese Verbindungen ACE spezifisch inhibieren.

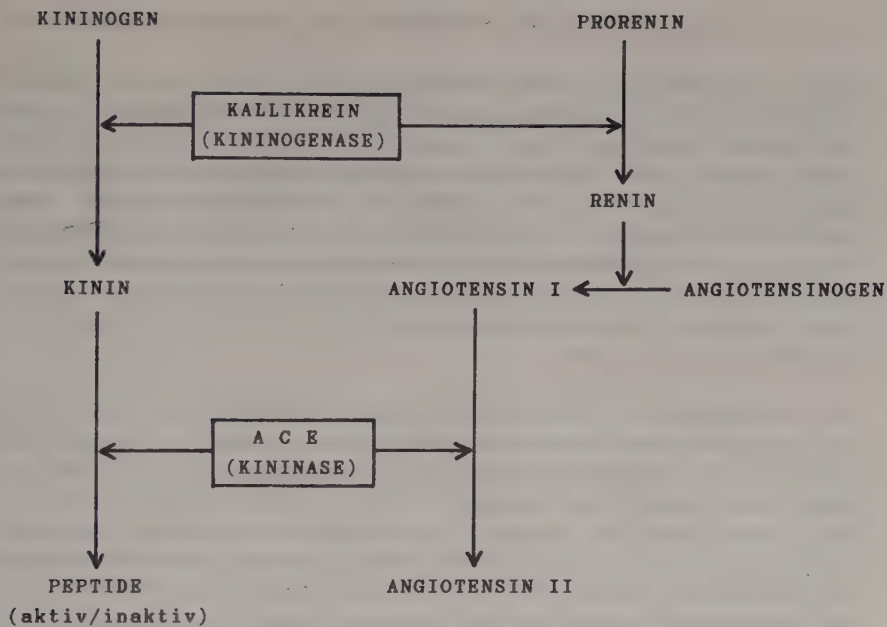


Abb. 8 : Beziehungen zwischen dem Kallikrein-Kinin System und dem Renin-Angiotensin System und ihre Regulation durch Kallikrein und ACE

2.3.2. DAS KALLIKREIN-KININ SYSTEM UND DIE MÄNNLICHE FERTILITÄT

1974 stellten Schill und Haberland (123, 124, 125) fest, daß sowohl durch Kiningaben, als auch durch die Kininogenase Kallikrein die Spermatozoen-Motilität deutlich verbessert werden konnte. Dabei stieg nicht nur die Gesamtmotilität an, sondern vor allem auch die Propulsiv-Motilität, die für die Penetration der Spermien entscheidend ist. Ein Anstieg der Spermatozoen-Gesamtzahl konnte nach Therapie mit Kallikrein (Padutin^R) ebenfalls beobachtet werden (150), außerdem der Zusammenhang zwischen Spermatozoenmotilität und Zervixmukuspenetration (109, 162) in Gegenwart von Kallikrein.

Die Wirkungen von Kallikrein auf die Spermatozoen untersuchte Schill in umfangreichen klinischen Studien. Nach Applikation von täglich 600 KE Padutin^R 100 über sieben Wochen zeigte sich bei infertilen Männern mit Asthenozoospermie (herabgesetzte Motilität - unter 50% - bei normaler Morphologie und normaler Spermatozoenzahl) ein Anstieg der Spermatozoengesamtzahl und eine Zunahme der Zahl der beweglichen Spermatozoen (71). Bei Männern mit Oligozoospermie (unter 20 Mio. Spermatozoen/ml) war nach der Kallikreinbehandlung (dreimal wöchentlich 40 KE i.m.) ebenfalls eine signifikante Verbesserung der Spermatozoenzahl und -motilität zu beobachten (126). Bei beiden Patientengruppen konnte nach der Kallikreintherapie außerdem ein signifikanter Anstieg der Konzeptionsrate verzeichnet werden.

Die Untersuchungen anderer Forscher ergaben, daß Organ-Kallikrein im Seminalplasma höhere Konzentrationen aufweist als im Blutserum. Den Hauptanteil daran sezernieren vor allem Prostata und Nebenhoden (33, 34).

Die höchsten Aktivitäten des Angiotensin-Converting-Enzyme konnten in Hoden und Nebenhoden nachgewiesen werden (22, 55). Auffallend sind aber auch die hohen ACE-Aktivitäten im Seminalplasma (53, 54, 101). In unserer Arbeitsgruppe wurden durchschnittliche ACE-Aktivitäten im Seminalplasma von Patienten mit Normozoospermie gemessen, die im Vergleich zu den Werten im Serum von Männern um das 38-fache höher liegen, im Vergleich zu den Werten im Serum

von Frauen gar um das 52-fache höher (72, 128).

Da die Kinine die Motilität menschlicher Spermatozoen fördern (123), und da ACE als Kininase die Kinine zu inaktiven Peptiden abbaut, würde deren stimulierender Einfluß auf den Energiestoffwechsel der Spermatozoen auch im Hinblick auf die Propulsivbewegung abgeschwächt werden. Die Klärung der Frage, ob die Motilität durch ACE, das heißt durch ACE-Inhibitoren tatsächlich beeinflußt wird, war eines der Ziele unserer Untersuchungen.

2.3.3. DIE BEDEUTUNG DER ANTIFERTILEN SUBSTANZ GOSSYPOL

2.3.3.1. DIE ANTIFERTILE WIRKUNG VON GOSSYPOL

Chinesischen Wissenschaftlern fiel erstmals auf, daß Speisenzubereitung mit rohem Baumwollsaamen-Öl zur Infertilität der Männer führte. Im Jahre 1899 gelang es dann, aus Baumwollsaamen (*Gossypium* sp.) "Gossypol" zu isolieren und die Substanz später als die wirksame Komponente bei der Entstehung der Infertilität nach dem Genuß von Baumwollsaamen-Öl zu charakterisieren.

Die antifertile Wirkung von Gossypol wurde mittlerweile bereits bei zahlreichen Spezies nachgewiesen (17, 42, 43, 161). Besonders umfangreich waren solche Untersuchungen in der Volksrepublik China. An 8808 Probanden wurde der Nachweis geführt, daß Gossypol die Spermatogenese reversibel hemmen kann (78, 98, 110). Über die klinischen Anwendungsmöglichkeiten als Medikament bestehen allerdings erhebliche Bedenken, da man bereits zahlreiche Nebenwirkungen feststellen mußte. So traten bei einem Prozent der Probanden Hypokaliämien auf. Weitere mögliche toxische Eigenschaften des Präparates wurden diskutiert. Andere Forscher-Teams stellten fest, daß nach Absetzen des Medikamentes die Infertilität bei 15 Prozent der Männer irreversibel war (108).

2.3.3.2. DIE HEMMUNG DER SPERMATOZOEN-MOTILITÄT DURCH GOSSYPOL

Neben der antifertilen Wirkung von Gossypol konnte mehrfach nachgewiesen werden, daß Gossypol die Spermatozoenmotilität sowohl in vitro (68, 107, 113, 155, 160) als auch in vivo (14, 163) hemmen kann. Daraufhin wurde vorgeschlagen, Gossypol als topisch anzuwendendes vaginales Kontrazeptivum einzusetzen (14, 107, 155), nicht zuletzt im Hinblick auf die äußerst geringe Dosierung, die zur Hemmung der Spermatozoen-Motilität ausreicht (107, 113).

Die genauen biochemischen Mechanismen, die diese Hemmung der Motilität bewirken, kennt man allerdings bis heute noch nicht.

2.3.3.3. ERFORSCHTE BIOCHEMISCHE GRUNDLAGEN

Es gibt eine ganze Reihe von Effekten, die man als Ursache der antifertilen Wirkung von Gossypol diskutierte.

So hemmt Gossypol die Testosteron-Sekretion (76), stört die Reifung der Keimzellen (174) und induziert die Prostaglandin-Biosynthese in den Gonaden (111).

Von besonderer Bedeutung scheint die Tatsache zu sein, daß sich Gossypol irreversibel an die Laktatdehydrogenase X (E.C.1.1.1.27) bindet, ein Enzym, das nur in den Spermatozoen von Säugern nachgewiesen werden konnte (149). Die Inaktivierung der LDH X führt zu einer Hemmung der Glykolyse, wodurch der Stoffwechsel der Spermatozoen und auch die Motilität gestört werden. Möglicherweise führt dies letztendlich sogar zum Zelltod der Spermatozoen (149).

2.3.3.4. WECHSELWIRKUNG VON GOSSYPOL MIT KOMPONENTEN DES KALLIKREIN-KININ- UND RENIN-ANGIOTENSIN-SYSTEMS

Erst vor kurzer Zeit konnte in unserer Arbeitsgruppe erstmals nachgewiesen werden, daß Gossypol auch in der Lage ist, die Aktivität des Angiotensin-Converting-Enzyme zu hemmen (72).

Da ACE nun bekanntlich eines der Schlüsselenzyme sowohl im Renin-Angiotensin System als auch im Kallikrein-Kinin System ist, stellte sich die Frage, ob zwischen der Hemmung der Motilität und der Hemmung der ACE-Aktivität ein Zusammenhang besteht.

Um dieses Problem zu lösen, bieten sich vergleichende Untersuchungen zwischen Gossypol und Kininase-Hemmern an, einer Reihe von Substanzen, die ACE spezifisch zu inhibieren vermögen. Zu den ACE-Hemmern zählen unter anderem die Medikamente Captopril (Lopirin^R) und Enalapril (Xanef^R), die beide in den letzten Jahren als Antihypertensiva, speziell bei den renal bedingten Formen, in der Praxis große Bedeutung erlangt haben.

Die Fragestellung nach einem Zusammenhang zwischen der Motilitätshemmung und der Hemmung der ACE-Aktivität durch Gossypol hat insofern auch für die Klinik eine große Bedeutung, da bis jetzt der genaue molekulare Wirkungsmechanismus von Gossypol noch immer völlig im Dunkeln liegt. Obwohl diese Substanz, wie schon ausführlich dargestellt wurde, in der Lage ist, eine ganze Reihe unterschiedlichen Klassen angehörender Enzyme zu hemmen.

Warum wir gerade der Hemmung von Enzymen des Kallikrein-Kinin- und des Renin-Angiotensin-Systems eine so große Bedeutung beimessen, liegt auf der Hand. Denn hier in dieser Klinik wurde erstmals gezeigt, daß Komponenten dieser Systeme tatsächlich in der Lage sind, die männliche Fertilität zu beeinflussen (123, 124, 125).

2.3.4. DER EINFLUSS VON HORMONEN AUF DIE SPERMATOZOEN-MOTILITÄT

Hormone haben, das belegen zahlreiche Untersuchungen, einen Einfluß auf die Motilität der Spermatozoen. Von Interesse war es für uns, den Einfluß insbesondere solcher Hormone auf die Motilität zu erfassen, die im Seminalplasma nachweisbar sind.

2.3.4.1. THEORETISCHE GRUNDLAGEN (STICHWORTE)

Im Seminalplasma nachgewiesen wurden die Hormone:

- Testosteron
- Progesteron
- Östrogene
- Gewebshormone wie Prostaglandine, Kinine
- Peptidhormone - ADH
 - Wachstumshormon
 - Prolactin
 - FSH
 - LH
 - ACTH
 - Thyroxin

Aber auch die Peptidhormone, die anscheinend nicht einer tropen Regulation unterliegen, wie Insulin und vor allem das mit Insulin strukturidentische Relaxin konnten nachgewiesen werden. Besonders auffallend waren die erst kürzlich nachgewiesenen hohen Konzentrationen von Relaxin im Seminalplasma (12), von dem eine biologische Funktion nicht bekannt ist.

Relaxin ist chemisch gesehen ein Polypeptid, das sowohl vom menschlichen Corpus luteum als auch von der Decidua gebildet wird (15). Es führt zur Lockerung der Cervix und der Symphyse durch Umbau des Bindegewebes und bewirkt somit eine Weitung des Geburtskanals.

Allgemein ist dieses Hormon auch von Interesse für die Dermatologie. Denn es hat einen Einfluß auf den Bindegewebstoffwechsel, wie die oben genannten Untersuchungen belegen.

Die Bedeutung von Relaxin für dermatologische Krankheitsbilder, bei denen es zu einer Vermehrung oder einem Umbau des Bindegewebes kommt, wie zum Beispiel Sklerodermie oder Sarkoidose, ist nicht bekannt. Allerdings wurde schon verschiedentlich von therapeutischen Erfolgen nach intramuskulärer oder intravenöser Relaxingabe berichtet, speziell bei dermatologischen Erkrankungen.

So zeigten sich bei Sklerodermie-Patienten drei bis fünf Wochen nach Beginn der Therapie mit Relaxin deutliche Verbesserungen des Raynaud-Phänomens und der Hautsklerosierungen, ohne daß über toxische Nebenwirkungen berichtet wurde (134). Gute Behandlungserfolge wurden auch bei arteriosklerotischen Hautveränderungen (chronische Ulzerationen, Gangrän) beschrieben (134).

Wegen der Bedeutung von Relaxin wurde der Einfluß auf die Spermatozoen-Motilität *in vitro* untersucht. Da menschliches Relaxin bisher nicht zur Verfügung steht, verwendeten wir für die Untersuchungen heterologes porcines Relaxin.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. DEFINITIONEN

$$\text{Motilität (\%)} = \frac{\text{bewegliche Spermatozoen} \times 100}{\text{Zahl der Spermatozoen}}$$

$$\text{Geschwindigkeit (um/s)} = \frac{\text{gesamte zurückgelegte Wanderungsstrecke}}{\text{Zahl der beweglichen Spermatozoen}}$$

Die Motilität wurde in Prozent der Gesamtzahl der beobachteten Spermatozoen angegeben, die mittlere Geschwindigkeit in um/s ausgedrückt.

3.2. SUBSTANZEN

3.2.1. EJAKULATE

3.2.1.1. ERHALT DER EJAKULATE

Die Ejakulate erhielten wir von Patienten der andrologischen Ambulanz unserer Klinik. Die Ejakulatgewinnung erfolgte durch Masturbation nach einer Karenzzeit von 4-5 Tagen. Für die routinemäßige Labordiagnostik wurden sie hinsichtlich Volumen, pH-Wert, Geruch und Farbe, Koagulation und Verflüssigungszeit beurteilt. Das Spermiogramm umfasste ferner die morphologische Beurteilung, Motilitätsbestimmung, Ermittlung der Spermatozoenzahl (Neubauer-Zählkammer) und eine Supravital-Färbung mit 0,5% Eosin.

3.2.1.2. AUSWAHL GEEIGNETER EJAKULATE

Für unsere Untersuchungen wählten wir grundsätzlich nur solche Ejakulate aus, die im Routine-Spermiogramm keinerlei pathologische Merkmale aufwiesen und deren progressive Motilität auf mindestens 30% geschätzt worden war.

3.2.1.3. VERARBEITUNG DER EJAKULATE

3.2.1.3.1. PUFFER

Die so erhaltenen Spermatozoen mußten vom Seminalplasma getrennt und in einem geeigneten Puffer-Milieu resuspendiert werden. In mehreren parallel laufenden Vorversuchen wurde der Puffer ermittelt, der die beste Gewähr für eine gleichbleibend hohe Spermatozoen-Motilität erbrachte.

Folgende Puffer wurden für den Vorversuch ausgewählt:

Tyrode-Lösung

NaCl	8.0 g	KCl	0.20 g
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.26 g	MgCl ₂ x 6 H ₂ O	0.212 g
Na-Pyruvat	0.036 g	NaHCO ₃	3.0 g
Glucose	1.008 g		
Aqua dest. ad 1000 ml, pH 6.9 - 7.2			
Osmolarität 300-310 mosm/l.			

Hepes-Puffer (nach Kaneko e. a.)

Hepes (20 mM)	4.77 g	NaCl	8.06 g
Na ₂ HPO ₄ x 2 H ₂ O	0.36 g	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.29 g
MgCl ₂ x 6 H ₂ O	0.41 g	Glucose	1.80 g
NaOH (1 N)	7.5 ml	KOH (1 N)	2.5 ml
Aqua dest. ad 1000 ml, pH 7.4			

Bakers-Puffer

Glucose	30 g	Na ₂ HPO ₄	6.0 g
KH ₂ PO ₄	0.1 g	NaCl	2.0 g
Aqua dest. ad 1000 ml, pH 7.8			

Shams-Borhan-Puffer

NaCl	8.12 g	KCl	0.186 g
Glucose	1.80 g	CaCl ₂	0.44 g
Hepes (20 mM)	4.77 g		
Aqua dest. ad 1000 ml, pH 7.4			

Tyrode-Lösung, modifiziert durch Zugabe von Hepes

NaCl	8.0 g	KCl	0.20 g
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.26 g	MgCl ₂ x 6 H ₂ O	0.212 g
Na-Pyruvat	0.036 g	NaHCO ₃	1.0 g
Glucose	1,008 g	Hepes (15 mM)	3.57 g.
Aqua dest. ad 1000 ml, pH 7.4			
Osmolarität 307 mosm/l.			

Die besten Motilitäten in den Vorversuchen ergaben die Messungen mit dem letztgenannten Puffer: Tyrode-Lösung, modifiziert durch Zugabe von Hepes. Daher verwendeten wir diesen Puffer für alle unsere Untersuchungen.

3.2.1.3.2. VORBEREITUNG DER SPERMATOZOEN

Um ausschließlich den Einfluß der Testsubstanzen auf die Motilität und Geschwindigkeit der Spermatozoen zu erkennen, wurden diese durch mehrere Waschvorgänge vom Seminalplasma abgetrennt.

Die Motilität gewaschener Spermatozoen ist im allgemeinen niedriger als die nativer Spermatozoen. Der Motilitätsverlust ist durch die Zentrifugations- und Waschvorgänge bedingt. Außerdem kommt es als Folge des Waschprozesses (25, 45, 46, 77, 85, 158, 159, 168, 169) zum Verlust von Spermatozoen aus dem Ejakulat.

Außerdem wurden Veränderungen hinsichtlich der Zusammensetzung und Struktur der Spermatozoenmembran beobachtet, die wahrscheinlich auf bestimmte Komponenten des Waschmediums (z.B. Albumin, Aminosäuren, EDTA) zurückzuführen sind (29, 64, 66).

Auch Veränderungen der Respirationsrate der Spermatozoen wurden nachgewiesen, wobei es als Folge des Waschvorganges auch zu Steigerungen um 200-300% kommt (27).

Gewaschene Spermatozoen zeigen eine starke adhäsive Tendenz zu Glasoberflächen, was zu signifikanten experimentellen Fehlern führen kann (29, 65). Um diesen Effekt möglichst zu vermeiden, wurden ausschließlich Kunststoffgefäße für die experimentellen Untersuchungen verwendet.

Im ersten Waschvorgang wurde, abhängig von der gemessenen Dichte der Ejakulate, Nativsperma im Verhältnis 1:1 bis 1:5 mit Puffer (Tyrode-Lösung, modifiziert mit Hepes) versetzt, gemischt und bei 350 g 10 Minuten bei Zimmertemperatur zentrifugiert. Nach Absaugen des Überstandes wurde das Pellet mit 2 ml Puffer resuspendiert, gemischt und erneut 10 Minuten lang (350 g, Zimmertemperatur) zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, das verbliebene Pellet mit ca. 1 ml Puffer vermischt und die Probe unter dem Mikroskop auf ihre Dichte hin beurteilt.

3.2.1.3.3. KONZENTRATION DER GEWASCHENEN SPERMATOZOEN IM TEST

Die Meßmethoden erforderten eine Spermatozoendichte von 40-50 Mio/ml, welche durch mehrfache Beurteilung der gewaschenen Spermatozoen im Mikroskop und gegebenenfalls Beimischung von Hepes-Puffer annähernd eingestellt wurde.

3.2.2. MEDIKAMENTE

Folgende Medikamente wurden den gewaschenen Spermatozoen in den angegebenen Konzentrationen zugesetzt:

Gossypol-Essigsäure, Racemat (Fa. Sigma, München)	10^{-4}	bis $10^{-6.3}$ M
(+)-Gossypol (freundlicherweise überlassen von Dr. Kalla, Biophysical Department, Punjab University, Chandigarh, India)	10^{-4}	bis $10^{-6.3}$ M
Captopril, spezifischer ACE-Hemmer (von Heyden Co., München)	10^{-2}	bis 10^{-5} M
Enalaprilat, spezifischer ACE-Hemmer (MSD Sharp und Dohme GmbH, München)	10^{-3}	bis 10^{-6} M
Trifluoperazin, Calmodulin-Antagonist (Boehringer Mannheim)	$10^{-3.7}$	bis $10^{-5.7}$ M
Alpha-Bungarotoxin, Acetylcholin-Rezeptorblocker (Fa. Sigma, München)	$10^{-4.3}$	bis 10^{-8} M
Bromocriptinmesilat, Alpha-Rezeptorblocker (Sandoz AG, Nürnberg)	10^{-3}	bis $10^{-6.3}$ M
Lisuridhydrogenmaleat, Alpha-Rezeptorblocker (Schering AG, Berlin)	$10^{-3.2}$	bis $10^{-6.2}$ M
Relaxin, Peptidhormon (National Institute of Health, Bethesda, Maryland, USA)	10^{-4}	bis $10^{-6.3}$ M

3.3. MESSMETHODEN

3.3.1. MULTIPLE EXPOSURE PHOTOGRAPHY (MEP)

3.3.1.1. DURCHFÜHRUNG DER MEP

Eine objektive Messung der Spermatozoen-Motilität ist eine unumgängliche Forderung für die andrologische Diagnostik. Die bisher meist angewandte Methode beruht auf Schätzungen und hat daher den entscheidenden Nachteil, subjektiv also ungenau zu sein. Die von Makler und Mitarbeitern beschriebene Methode der "Multiple Exposure Photography" (MEP) ermöglicht es, unter standardisierten Bedingungen die Motilität der Spermatozoen objektiv zu erfassen und quantitativ zu messen (83).

Nach der Vorbehandlung werden die Zellproben in eine Zählkammer mit einer Schichthöhe von 10 μ m eingebracht (84), in der nur die freie horizontale Bewegung der Spermatozoen in der fokalen Ebene möglich ist. Die Proben wurden dann im Phasenkontrastmikroskop beobachtet und nach dem "Multiple Exposure"-Prinzip photographiert; d.h. innerhalb einer Sekunde erhält die photographische Einrichtung 7 Lichtimpulse, die durch ein mechanisches Stroboskop produziert werden (Abb. 9). Das Stroboskop besteht aus einer Scheibe mit 7 schmalen Schlitzten, die sich mit einer Geschwindigkeit von exakt einer Umdrehung pro Sekunde zwischen Lichtquelle und Kondensor dreht. Nach Entwicklung des Films werden bewegliche Spermatozoen als eine "7-Glieder-Kette" auf dem photographischen Film dargestellt. Unbewegliche Spermatozoen hingegen erscheinen als einzelne helle Punkte (Abb. 10).

Eine andere Möglichkeit besteht darin, auf den Stroboskop-Effekt ganz zu verzichten und den Film einfach nur eine Sekunde lang zu belichten. Hierbei bilden sich motile Spermatozoen in Form einer (verwaschenen) Spur ab, während unbewegliche wiederum als einzelne helle Punkte zu erkennen sind (Abb. 11). Der Nachteil dieser Methode liegt bei der unter Umständen sehr unscharfen "Spermienspur" gegenüber der scharf abgebildeten "7-Glieder-Kette". Von Vorteil erwies es sich jedoch, hier die Bewegungsabläufe der motilen Spermatozoen nachvollziehen zu können.

3.3.1.2. AUSWERTUNG DER MEP

3.3.1.2.1. AUSWERTUNG DER MOTILITÄT

Die Negativbilder werden in einem Diaprojektor (Diastar 200) vergrößert (Abb. 9) und auf einen Bildschirm projiziert auf den eine durchsichtige Folie aufgelegt wurde. Die "7-Glieder-Kette" und die "hellen Punkte" werden auf der Folie aufgezeichnet und ausgezählt. Pro Probe werden auf diese Weise mindestens 200-400 Spermatozoen ausgewertet. Für jedes Medikament verwendeten wir mindestens 3 Ejakulate verschiedener Spender.

3.3.1.2.2. AUSWERTUNG DER GESCHWINDIGKEIT

Zur Berechnung der mittleren Geschwindigkeit beweglicher Spermatozoen projizierten wir die einzelnen Dia-Bilder auf einen speziell für diesen Zweck konstruierten Bildschirm. Mit Hilfe eines Landkarten-Meßrädchens werden die Wegstrecken der motilen Spermatozoen vom Anfang bis zum Ende abgemessen. Unter Berücksichtigung des Vergrößerungsfaktors läßt sich die Geschwindigkeit der Spermatozoen nach folgender Formel errechnen:

$$V = \frac{T \times S}{N \times (P - 1)}$$

V = mittlere Geschwindigkeit (um/s)
T = Gesamtlänge der vermessenen Spuren (um) unter Berücksichtigung des Vergrößerungsfaktors
S = Anzahl der Lichtimpulse pro Sekunde
N = Anzahl der vermessenen motilen Spermatozoen pro Probe
P = Anzahl der in der Kette des sich am schnellsten bewegendenden Spermatozoons zu sehenden Köpfchen

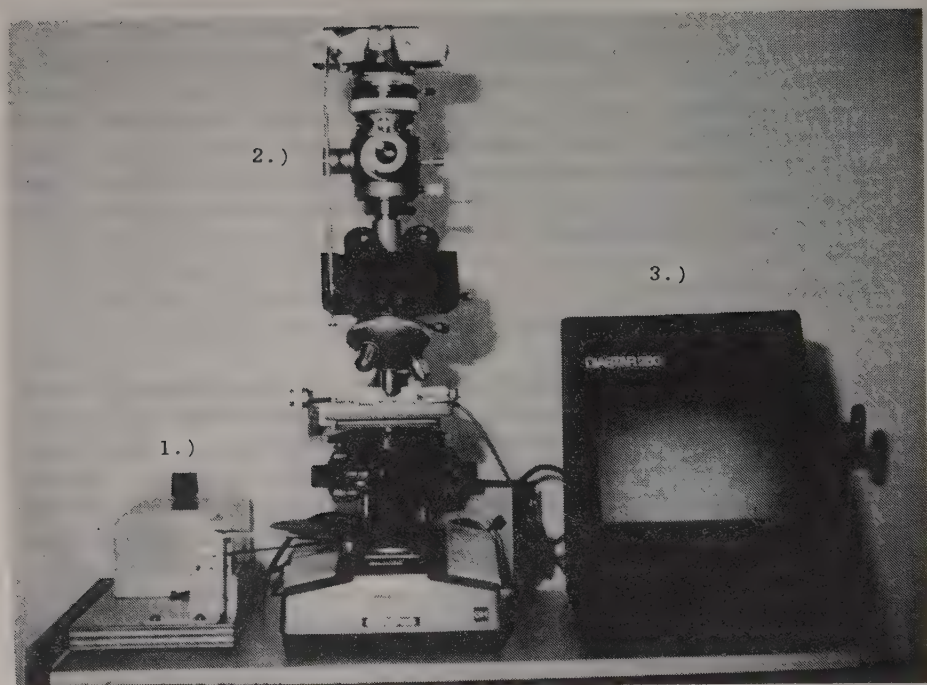


Abb. 9: Apparatur zur photographischen Analyse der Spermatozoen-Motilität nach dem Prinzip der "Multiple Exposure Photography" (MEP).

- 1.): Motor, der eine Stroboskopscheibe mit 7 radial zentrierten und genormten Schlitzen einmal pro Sekunde zwischen Lichtquelle und Kondensor dreht.
- 2.): Phasenkontrast-Mikroskop mit angebauter Camera (Fa. Olympus, Typ OM 2n) und "Thermister", einer temperaturkonstanten Heizplatte.
- 3.): Diaprojektor (Diastar 200), der das photographische Negativbild vergrößert.

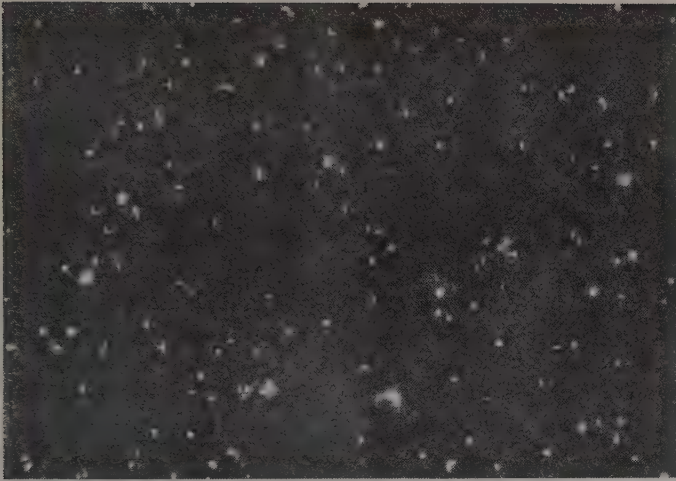


Abb. 10: Gewaschene menschliche Spermatozoen, Aufnahme mittels der MEP. Unbewegliche Spermatozoen erscheinen als einzelne helle Punkte, motile bedingt durch den Stroboskop-Effekt als 7-Glieder-Kette". Die Länge der Kette gibt den Weg der Spermatozoen in einer Sekunde wieder.



Abb. 11: Gewaschene menschliche Spermatozoen, ohne den Stroboskop-Effekt. Unbewegliche Spermatozoen erscheinen als helle Punkte, motile als "verwaschene Spur". Form und Länge der Spur geben die Art der Spermatozoenbewegung und die zurückgelegte Wegstrecke pro Sekunde wieder. (Abb. 11 und Abb. 12 zeigen Photo-Negative)

3.3.2. ANALYSE DER SPERMATOZOEN-MOTILITÄT MIT DER COMPUTER-GESTÜTZTEN BILD ANALYSE (CAPA)

Die Auswertung der Multiple Exposure Photography ist mit einem ganz erheblichen Aufwand verbunden und hat zudem den Nachteil, subjektiv bei der Beurteilung derjenigen Spermatozoen zu sein, deren Bewegungsmuster nicht ganz eindeutig ist. Auch erlauben die einmal erstellten Dianegative später nur eine eingeschränkte Aussage über die Bewegungscharakteristik der untersuchten Spermatozoen.

Durch die rasche Entwicklung der computergestützten Bildanalyse (CAPA = Computer Aided Picture Analysis) wurde dieses Verfahren auch für die Auswertung des mikroskopischen Bildes verfügbar.

Entscheidend ist dabei vor allem die Digitalisierung eines Videobildes, welche die automatische Auswertung gestattet (63). Dabei werden entweder on line über eine Videokamera aufgenommene Bilder oder off line über einen Videorecorder abgespielte Aufnahmen im Computer digitalisiert und anschließend ausgewertet.

Der entscheidende Vorteil dieses Verfahrens besteht - abgesehen von einer wesentlich rascheren automatisierten Auswertung - in der genauen Analyse des einzelnen Bewegungsablaufes. Spermatozoen, bei denen man mit der MEP-Methode nicht mehr genau entscheiden kann, ob sie "gerade noch" oder "schon nicht mehr" beweglich sind bzw. ob ihre Bewegung geradlinig ist oder zirkulär, können hiermit exakt abgegrenzt werden.

Mit dem CAPA-System wurde der Einfluß der Pharmaka Enalapril, Bromocriptin und Lisurid auf die Spermatozoen-Motilität untersucht (Abb. 12). Dieses Gerät wurde uns vom Hersteller (Firma Brunner Medizintechnik, München) freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

3.3.2.1. DURCHFÜHRUNG DER CAPA-ANALYSE

Das Bild Analyse System nimmt entweder on line vom Mikroskop oder - wie in unserem Fall - über eine Videoanlage Bilder von der Spermaprobe auf. Dabei können 8 (bis zu maximal 16) Bilder mit 256×256 Bildpunkten hintereinander mit variabler Zeitverzögerung (T) eingelesen werden. Das System identifiziert dann vollautomatisch die Zellköpfe, wobei es deren Helligkeit ($U=0.2$) aufnimmt und verfolgt die Bewegung der Zellen über die einzelnen Bilder. Die Verfolgung geschieht über die Zuordnung nächster Nachbarn von Bild zu Bild, wobei ein maximaler Zuordnungsradius (D) eingegeben werden kann. Dadurch können Aussagen sowohl über die Geschwindigkeit als auch über die Bewegungsform der Zellen getroffen werden. Die vom Computer gelieferten Daten können via Monitor verglichen werden.

Identifizierte Spermatozoen-Köpfe werden in direkt aufeinanderfolgenden Bildern dann einander zugeordnet, wenn sich genau ein Kopf aus Bild 1 in der Nachbarschaft (D) des zu untersuchenden Kopfes aus Bild 2 befindet und dieser Kopf aus Bild 2 keinen weiteren Nachbarn mehr im Suchradius hat.

Der Radius muß nun einerseits groß genug gewählt werden, um auch schnellste Spermatozoen zu erfassen, darf aber andererseits nicht zu groß sein, da sonst - bei Proben mit mehr als 50 Mio. Spermatozoen pro ml - keine Zuordnung mehr möglich ist. Besonders bei "schnellen" Proben ist also eine Verdünnung erforderlich, um den Grad der Auswertung hoch zu halten. Dieser läßt sich an der Zuordnungsstatistik (wieviele Zellen konnten über wieviele Bilder zugeordnet werden) ablesen.

Eine entscheidende Rolle spielt auch die Güte der Kopfidentifizierung. Sie läßt sich durch Eingabe der Helligkeitsschwelle (L) und der Mindestkopfgröße (W) maximieren, vorausgesetzt, das Gesichtsfeld ist gleichmäßig ausgeleuchtet.

Bei jedem Kopf wird die bisher durchlaufene Strecke und die Zahl der Bilder, über die er verfolgt wurde, gespeichert. Aus den Köpfen, die über 4 oder mehr aufeinanderfolgende Bilder verfolgt

werden konnten, wird die Bewegungsklasse ermittelt. Hierzu wird der Quotient der Strecke zwischen Anfangs- und Endpunkt des Kopfes und der Gesamtstrecke, die der Kopf durchlaufen hat, gebildet. Falls der Quotient 0.8 überschreitet, wird die Bewegung des Kopfes als geradlinig angesehen, zwischen 0.6 und 0.8 als seitwärtsbeweglich, ansonsten als nicht geradlinig.

3.3.2.2. AUSWERTUNG

Der Ausdruck der Bildanalyse erfolgt in Form von Klassifikationen der Zellköpfe, die über mindestens 4 Bilder verfolgt werden konnten. Klasse "tot" erfaßt alle unbeweglichen Spermien, "ortsbeweglich" diejenigen, die sich nicht geradlinig bewegten und "vorwärtsbeweglich" alle progressiv motilen Spermien.

Die Angabe der mittleren Geschwindigkeit umfaßt alle Zellen der Klasse "vorwärtsbeweglich" und erfolgt in $\mu\text{m/s}$.

Der im Computer integrierte "Geschwindigkeitsklassenspeicher" ermöglicht es, die Mittelwerte der Klassifikationen mehrerer Messungen ein und desselben Präparates direkt ausdrucken zu lassen. Bei einer durchschnittlichen Auswertung von 30-40 Zellen pro Analyse benötigt man daher ca. 7 bis 10 Messungen, um mindestens 200 Spermatozoen einer Probe erfassen zu können.

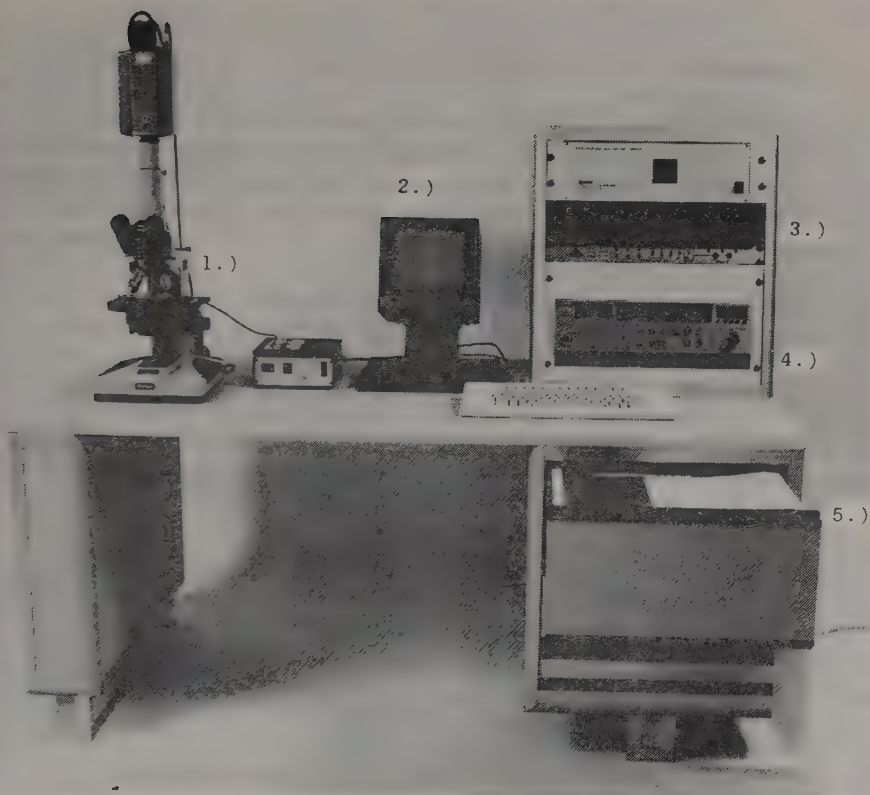


Abb. 12: Apparatur zur Analyse der Spermatozoen-Motilität mit Hilfe des "Microprozessor Bild Analyse Verfahrens"

- 1.): Mikroskop (Fa. Nikon) mit aufgebauter TV-Camera (Fa. RCA), daneben der Heiztisch (Mini Tub HT 100).
- 2.): Monitor und Computer-Terminal.
- 3.): Microprozessor Bild Analyse-Computer (Fa. Brunner Medizintechnik, München) mit Zeitgeber.
- 4.): Videorecorder (Fa. Panasonic 6200) zur Aufzeichnung der mikroskopischen Bilder.
- 5.): Drucker (Fa. Epson LQ-1500)

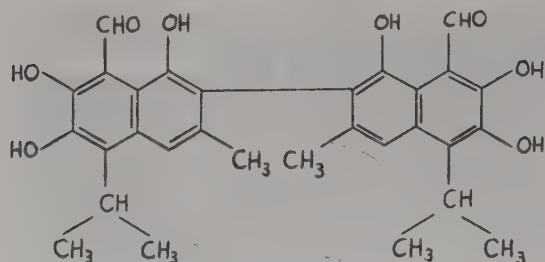
4. VERSUCHSERGEBNISSE

4.1. GOSSYPOL

Für die Untersuchungen wurde Gossypol-Essigsäure (Racemat) verwendet. Um die Wirkung von Gossypol auf die Spermatozoen-Motilität zu untersuchen, wurden jeweils drei unterschiedliche Ejakulate gewaschen und ihnen Gossypol, gelöst in Tyrode, in den oben angegebenen Konzentrationen zugefügt.

Als Ergebnis wurde eine vollständige Hemmung der Spermatozoen-Motilität bei einer Konzentration von $10^{-4} \text{ M} \times \text{l}^{-1}$ gefunden.

Strukturformel von Gossypol (MW: 578.5):



4.1.1. N,N-DIMETHYLFORMAMID (DMF) ALS LÖSUNGSVERMITTLER

Gossypol ist eine lipophile Substanz und wäre im rein wässrigen Milieu unlöslich. Aus diesem Grund war es notwendig, Gossypol mit Hilfe eines Vermittlers zwischen hydrophiler und lipophiler Phase in Lösung zu bringen.

Wir wählten N,N-Dimethylformamid (DMF) als Lösungsvermittler und zwar in einer Konzentration von 1:5, verdünnt mit Tyrode-Lösung. Bei dieser Konzentration hatte DMF selbst keinen schädigenden Einfluß auf die Spermatozoen-Motilität, wie die Kontrollexperimente ohne Gossypol zeigen.

Tabelle 1a: Einfluß von Gossypol Essigsäure (Racemat)
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen

Konzentration (M x l ⁻¹)	Motilität (%) nach 60 min				Motilität (%) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	31.6	8.0	10.4	16.7	10.4	15.2	10.2	11.9
10 ⁻⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ^{-4.3}	2.5	1.5	1.9	2.0	0	0	0	0
10 ⁻⁵	8.1	10.9	4.7	7.9	4.2	21.1	3.6	9.6
10 ^{-5.3}	11.3	8.7	5.5	8.5	8.6	20.8	3.5	11.0
10 ⁻⁶	8.5	12.6	7.4	9.5	13.3	13.3	9.5	12.0
10 ^{-6.3}	6.4	18.3	3.9	9.6	6.4	19.1	4.3	9.9
DMF 1:5	10.5	14.2	8.6	11.1	11.1	9.4	5.5	8.7

Tabelle 1b: Einfluß von Gossypol Essigsäure (Racemat)
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen

Konzentration (M x l ⁻¹)	Geschwindigkeit (um/s) nach 60 min				Geschwindigkeit (um/s) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	62.9	65.0	60.0	62.6	68.0	52.6	51.4	57.3
10 ⁻⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ^{-4.3}	36.7	42.9	40.0	39.9	0	0	0	0
10 ⁻⁵	59.3	56.6	67.3	61.1	68.0	60.0	53.3	60.4
10 ^{-5.3}	71.4	60.9	70.0	67.4	60.9	62.6	63.3	62.3
10 ⁻⁶	65.3	57.1	64.0	62.1	56.9	62.9	52.7	57.5
10 ^{-6.3}	74.3	74.4	72.0	73.6	62.2	62.9	62.0	62.4
DMF 1:5	60.0	75.5	66.7	67.4	52.0	62.9	42.5	52.5

MOTILITÄT

NACH 60 MIN (%)

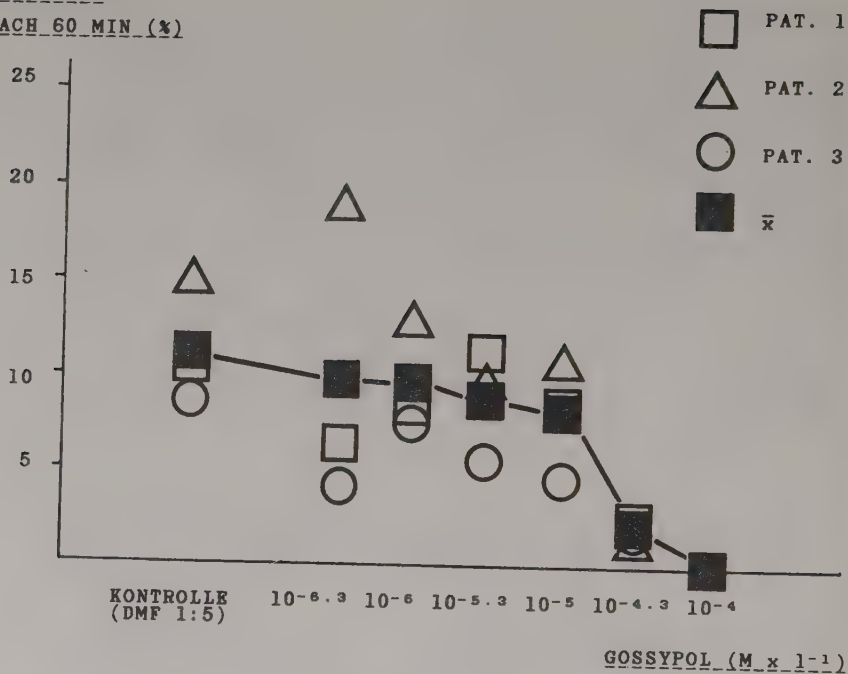


Diagramm 1a: Einfluß von Gossypol Essigsäure (Racemat)
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

GESCHWINDIGKEIT

NACH 60 MIN (um/s)

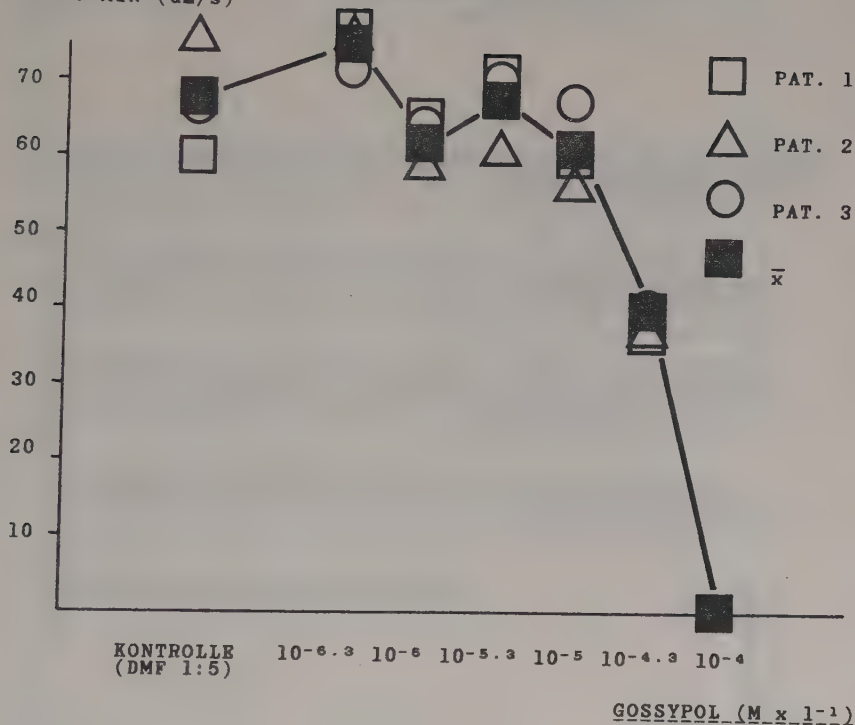


Diagramm 1b: Einfluß von Gossypol Essigsäure (Racemat)
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

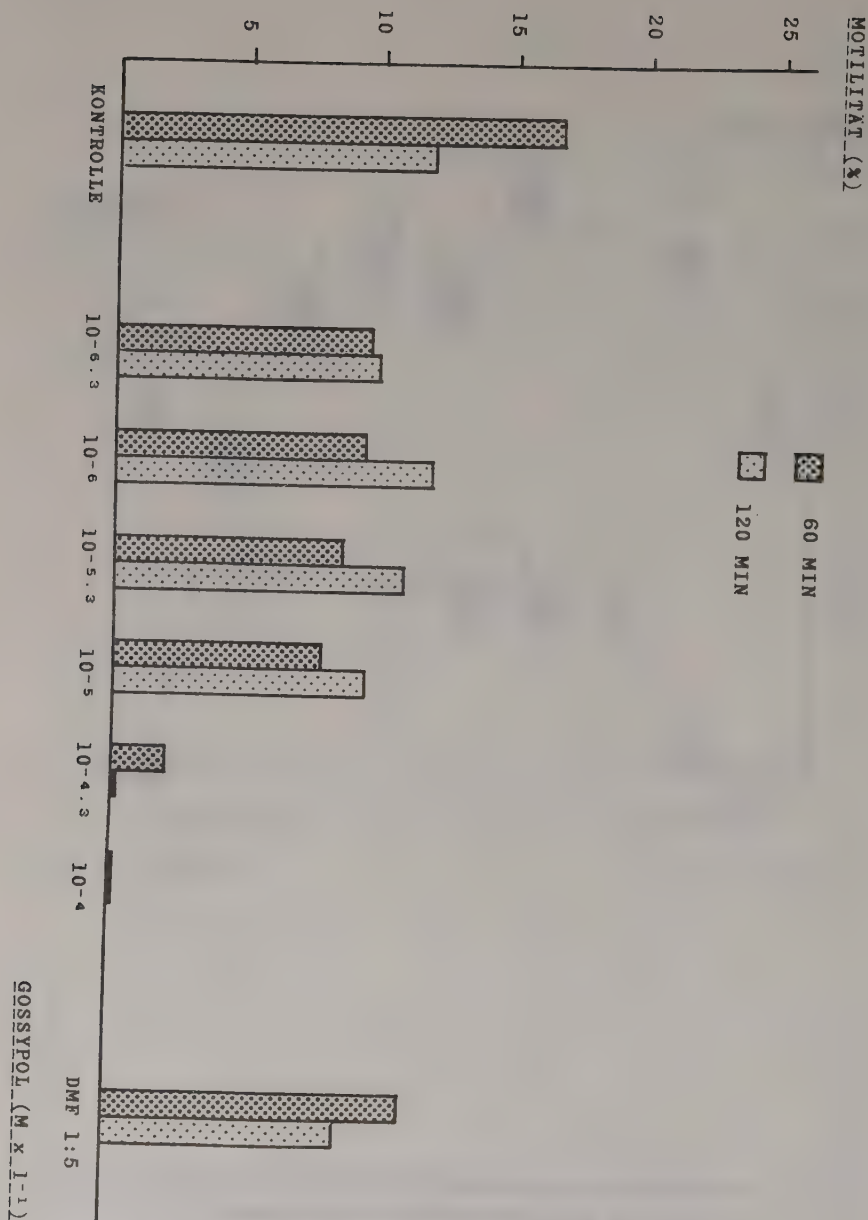


Diagramm 1c: Einfluß von Gossypol Essigsäure (Racemat) auf die Motilität (Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

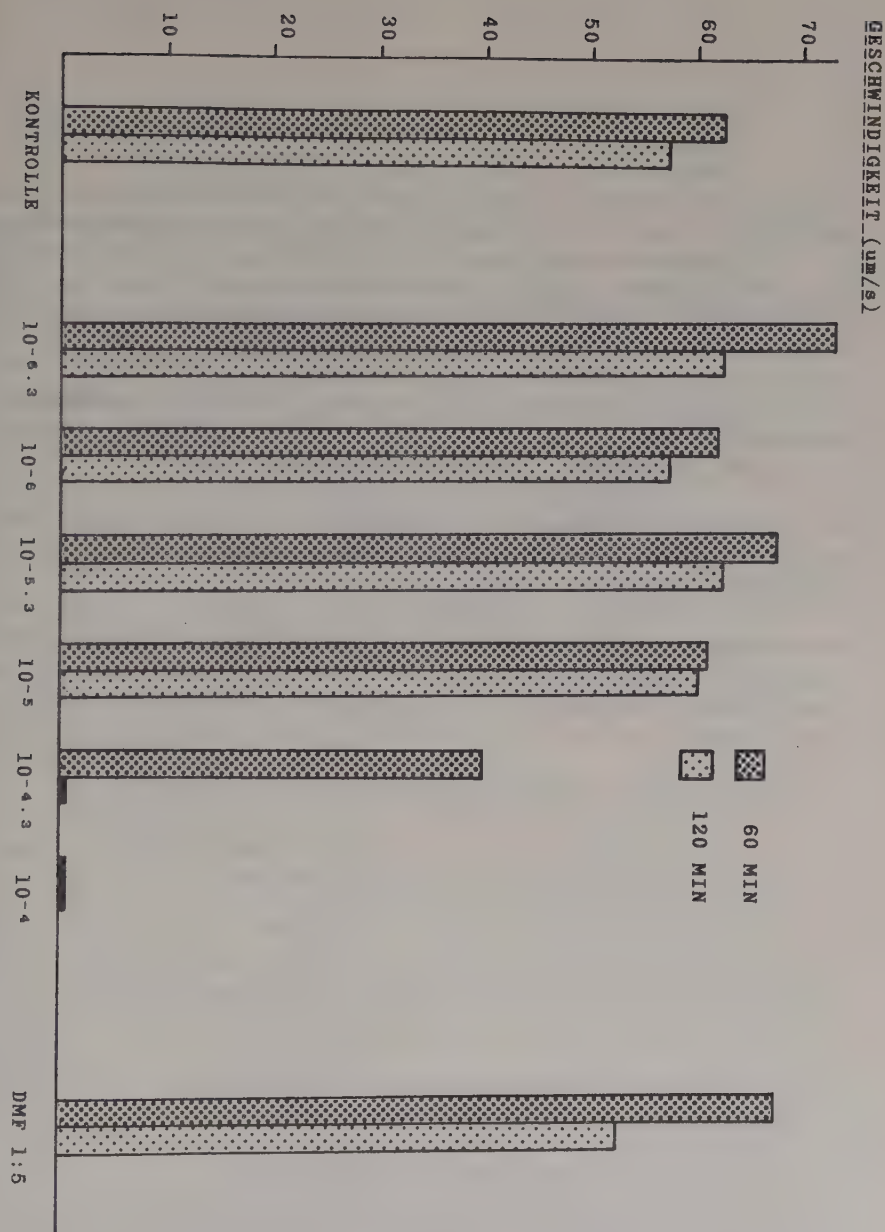


Diagramm 1d: Einfluß von Gossypol Essigsäure (Racemat) auf die Geschwindigkeit (Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

4.2. (+)-GOSSYPOL

Gossypol Essigsäure ist optisch aktiv und besteht aus den beiden optischen Antipoden D(+)-Gossypol und L(-)-Gossypol. Da die beiden optischen Antipoden wegen der meist strengen Stereospezifität unterschiedliche Wirkungen im Experiment erwarten ließen, wollten wir auch untersuchen, durch welche optische Antipode der motilitätshemmende Effekt des Racemates zustande kommt.

Das rechtsdrehende Isomer, (+)-Gossypol, wurde uns liebenswürdigerweise von Herrn Dr. N. Kalla, Abteilung für Biophysik, Panjab-University, Chandigarh, Indien zur Verfügung gestellt.

Das linksdrehende Isomer, (-)-Gossypol, war leider nicht zu erhalten, und konnte deshalb in den Untersuchungen nicht berücksichtigt werden.

(+)-Gossypol wurde in den gleichen Konzentrationen verwendet wie das Racemat, um den Einfluß auf Motilität und Geschwindigkeit der Samenzellen zu überprüfen. Im Ergebnis fanden wir eine vollständige Hemmung der Motilität bei einer Konzentration von 10^{-4} M $\times$ 10^{-1} .

Tabelle 2a: Einfluß von (+)-Gossypol
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen

Konzentration (M x l ⁻¹)	Motilität (%) nach 60 min				Motilität (%) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	8.9	6.6	7.3	7.6	6.2	9.5	8.2	8.0
10 ⁻⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ^{-4.3}	1.8	1.0	1.6	1.5	2.3	0	0	0.8
10 ⁻⁵	9.9	4.0	8.5	7.5	7.9	5.8	6.4	6.7
10 ^{-5.3}	8.7	4.6	5.3	6.2	8.7	10.1	10.3	9.7
10 ⁻⁶	10.3	4.8	8.8	8.6	9.8	8.0	7.3	8.4
10 ^{-6.3}	9.5	5.9	8.3	7.9	9.2	8.2	8.7	8.7
DMF 1:5	4.4	5.2	5.5	5.0	9.4	8.6	6.0	8.0

Tabelle 2b: Einfluß von (+)-Gossypol
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen

Konzentration (M x l ⁻¹)	Geschwindigkeit (um/s) nach 60 min				Geschwindigkeit (um/s) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	49.0	51.6	50.6	50.4	39.7	43.7	42.2	41.9
10 ⁻⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ^{-4.3}	38.0	40.9	38.1	39.0	25.0	0	0	25.0
10 ⁻⁵	38.3	39.0	40.2	39.2	37.8	41.7	36.8	38.8
10 ^{-5.3}	45.4	43.3	39.7	42.8	42.2	40.7	38.9	40.6
10 ⁻⁶	38.0	47.7	42.9	42.9	41.0	41.4	41.7	41.4
10 ^{-6.3}	39.6	31.4	40.7	37.2	46.3	56.7	40.5	47.8
DMF 1:5	50.0	48.3	44.2	47.5	52.4	50.4	46.5	49.8

MOTILITÄT

NACH 60 MIN (%)

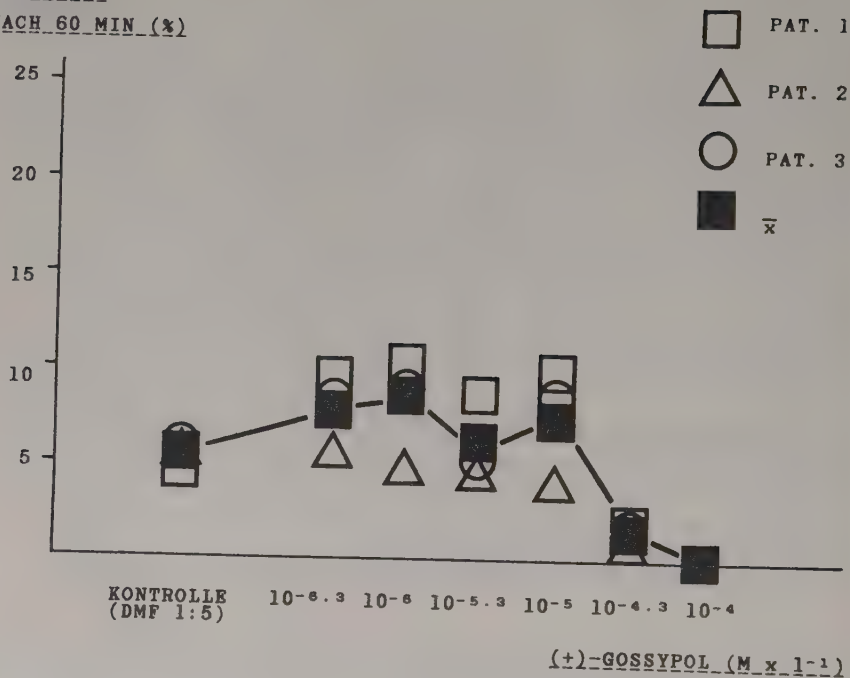


Diagramm 2a: Einfluß von (+)-Gossypol
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

GESCHWINDIGKEIT

NACH 60 MIN (um/s)

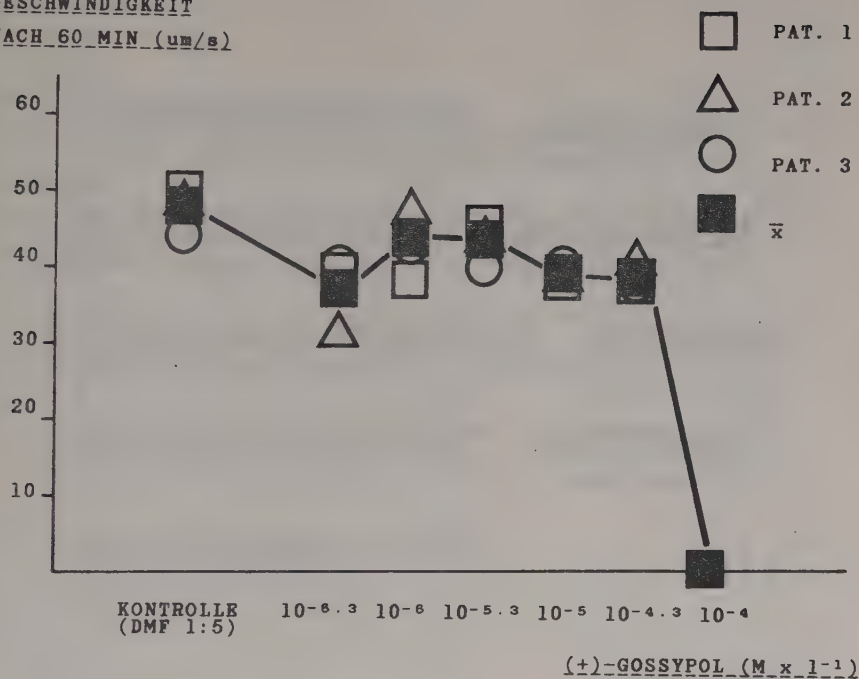
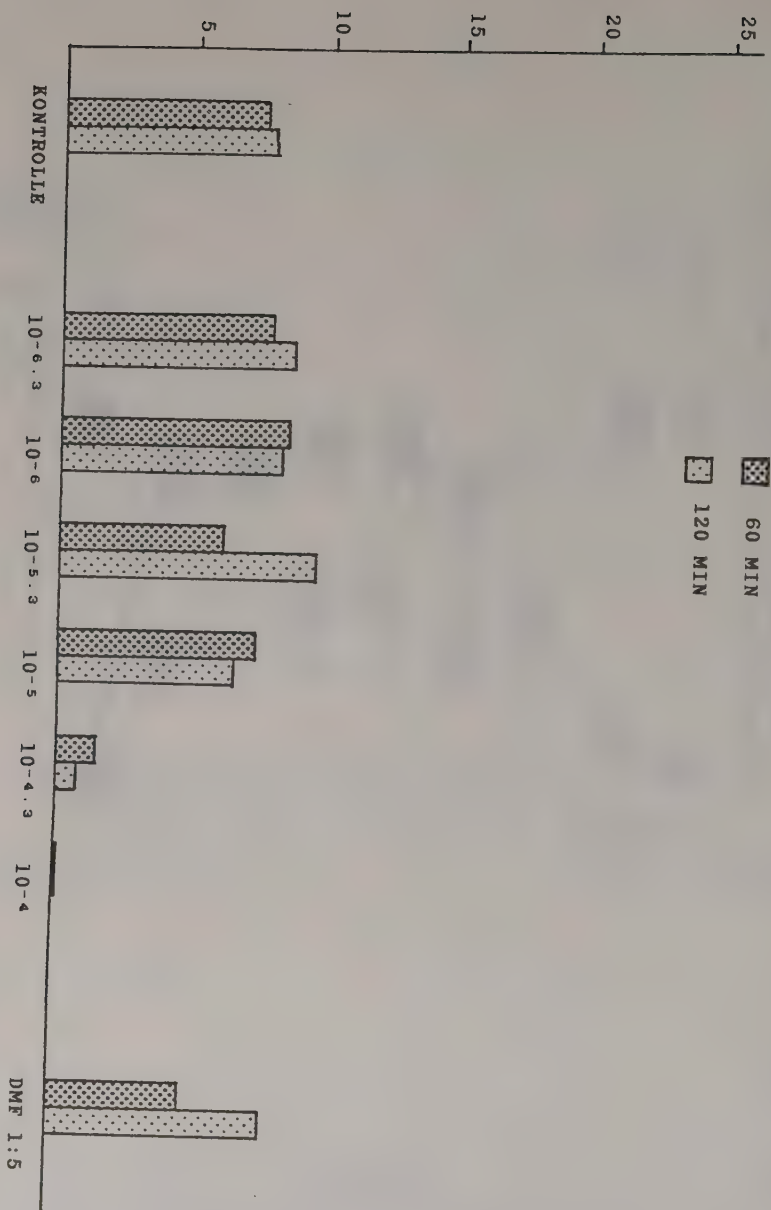


Diagramm 2b: Einfluß von (+)-Gossypol
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

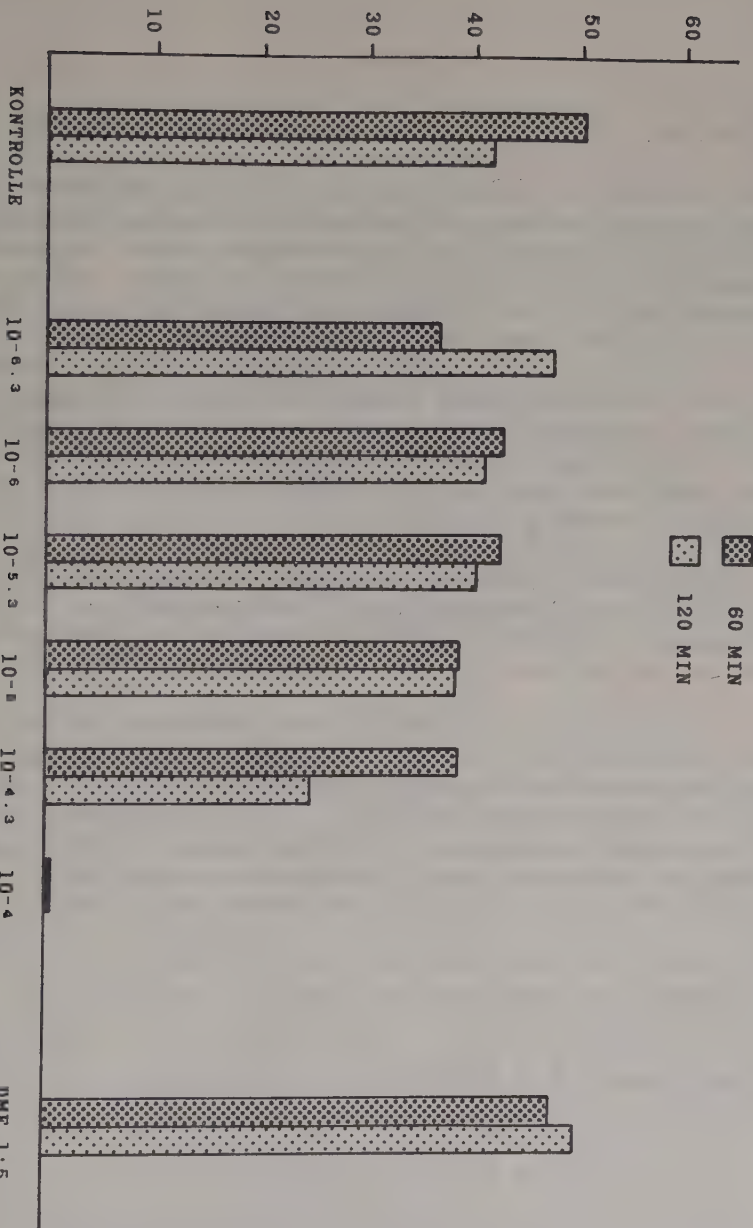
MOTILITÄT (%)



(+)-GOSSYPOL (M_x 1-1)

Diagramm 2c: Einfluß von (+)-Gossypol auf die Motilität
(Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

GESCHWINDIGKEIT (µm/s)



(+)-GOSSYPOL (M x 1-1)

Diagramm 2d: Einfluß von (+)-Gossypol auf die Geschwindigkeit (Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

4.3 CAPTOPRIL

Wie wir demonstriert haben, wird die Motilität der Spermatozoen sowohl durch das Racemat als auch durch (+)-Gossypol gehemmt. Da in unserer Arbeitsgruppe auch gezeigt werden konnte, daß Gossypol (Racemat) die Aktivität des Seminalplasma-ACE hemmt, lag es nahe zu untersuchen, ob dieses Enzym an der Regulation der Spermatozoen-Motilität in irgendeiner Form beteiligt ist.

Daher untersuchten wir den Einfluß spezifischer ACE-Hemmer wie Captopril (Lopirin[®]) und Enalapril (Xanef[®]) auf die Motilität menschlicher Spermatozoen. Diese Pharmaka werden seit einigen Jahren in der antihypertensiven Therapie verwandt, vor allem bei den renal bedingten Formen.

Als Ergebnis wurde gefunden, daß weder Captopril noch Enalapril in der Lage sind, die Motilität der Spermatozoen oder ihre Geschwindigkeit zu hemmen. Dies legt den Schluß nahe, daß ACE nicht direkt an der Regulation der Spermatozoenmotilität beteiligt ist.

Überraschenderweise ergab sich bei hohen Konzentrationen von Captopril (mehr als $10^{-3.3} \text{ M} \times \text{l}^{-1}$) sogar ein leichter Anstieg der Motilität der getesteten Spermatozoen. Dieser Effekt kann als eine alpha-mimetische Wirkung dieser Verbindung gedeutet werden und bildete den Ausgangspunkt für weiterführende Untersuchungen. So kann man sich vorstellen, daß umgekehrt alpha-Blocker einen hemmenden Einfluß auf die Motilität ausüben können (s. 4.7 und 4.8).

Strukturformel von Captopril (MW: 217):

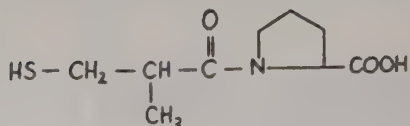


Tabelle 3a: Einfluß von Captopril
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen

Konzentration (M x l ⁻¹)	Motilität (%) nach 60 min				Motilität (%) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	9.4	7.9	29.4	15.6	6.3	11.5	19.4	12.4
10 ⁻²	20.4	18.1	35.8	24.8	13.2	17.9	25.0	18.7
10 ^{-2.3}	26.0	17.7	27.2	23.6	10.0	10.2	28.8	16.3
10 ⁻³	21.4	10.6	32.7	21.6	11.9	19.8	18.1	16.6
10 ^{-3.3}	15.2	14.2	32.8	20.7	19.0	18.4	19.8	19.1
10 ⁻⁴	12.3	8.1	22.4	18.6	10.1	7.0	17.6	11.6
10 ^{-4.3}	7.4	6.8	28.9	14.4	8.9	11.9	11.2	10.6
10 ⁻⁵	14.1	15.2	20.3	16.5	8.9	6.7	12.6	9.4

Tabelle 3b: Einfluß von Captopril
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen

Konzentration (M x l ⁻¹)	Geschwindigkeit (um/s) nach 60 min				Geschwindigkeit (um/s) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	44.8	45.0	42.7	44.2	41.0	46.5	46.7	44.7
10 ⁻²	45.9	43.8	52.5	47.4	46.1	48.9	51.9	49.0
10 ^{-2.3}	58.8	54.7	52.6	55.4	52.2	57.5	60.4	56.7
10 ⁻³	52.9	55.0	56.7	54.9	47.1	61.2	47.4	51.9
10 ^{-3.3}	59.6	52.8	52.1	54.8	53.9	59.7	48.8	54.1
10 ⁻⁴	45.4	52.9	50.2	49.5	54.4	53.0	48.0	51.8
10 ^{-4.3}	35.4	50.7	59.4	48.5	47.7	51.0	49.1	49.3
10 ⁻⁵	49.7	58.1	53.6	53.8	48.2	49.3	44.0	47.2

MOTILITÄT
NACH 60 MIN. (%)

□ PAT. 1
△ PAT. 2
○ PAT. 3
■ $\bar{x}$

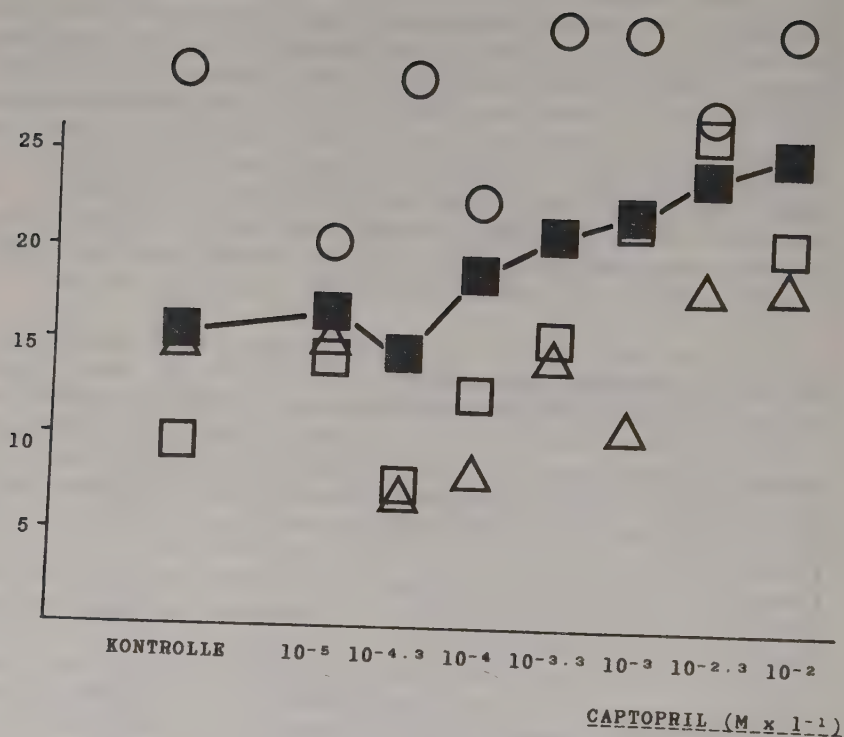
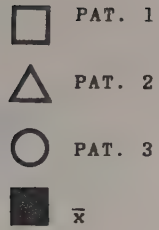


Diagramm 3a: Einfluß von Captopril
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)



GESCHWINDIGKEIT

NACH 60 MIN (um/s)

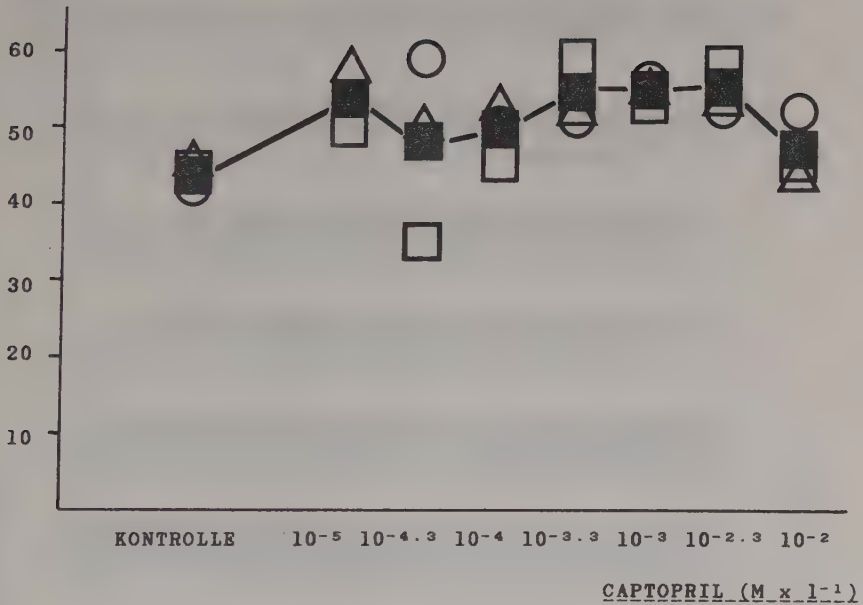


Diagramm 3b: Einfluß von Captopril
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

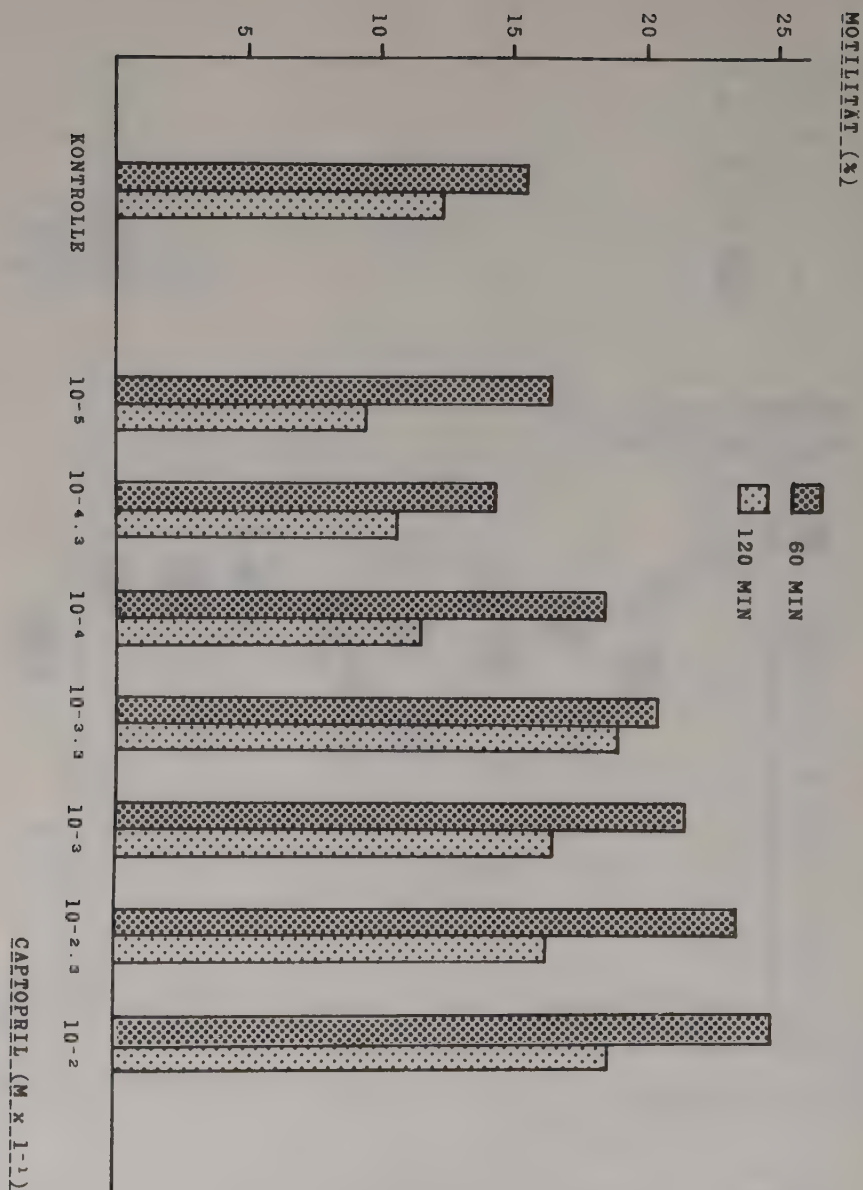


Diagramm 3c: Einfluß von Captopril auf die Motilität
(Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

GESCHWINDIGKEIT (mm/s)

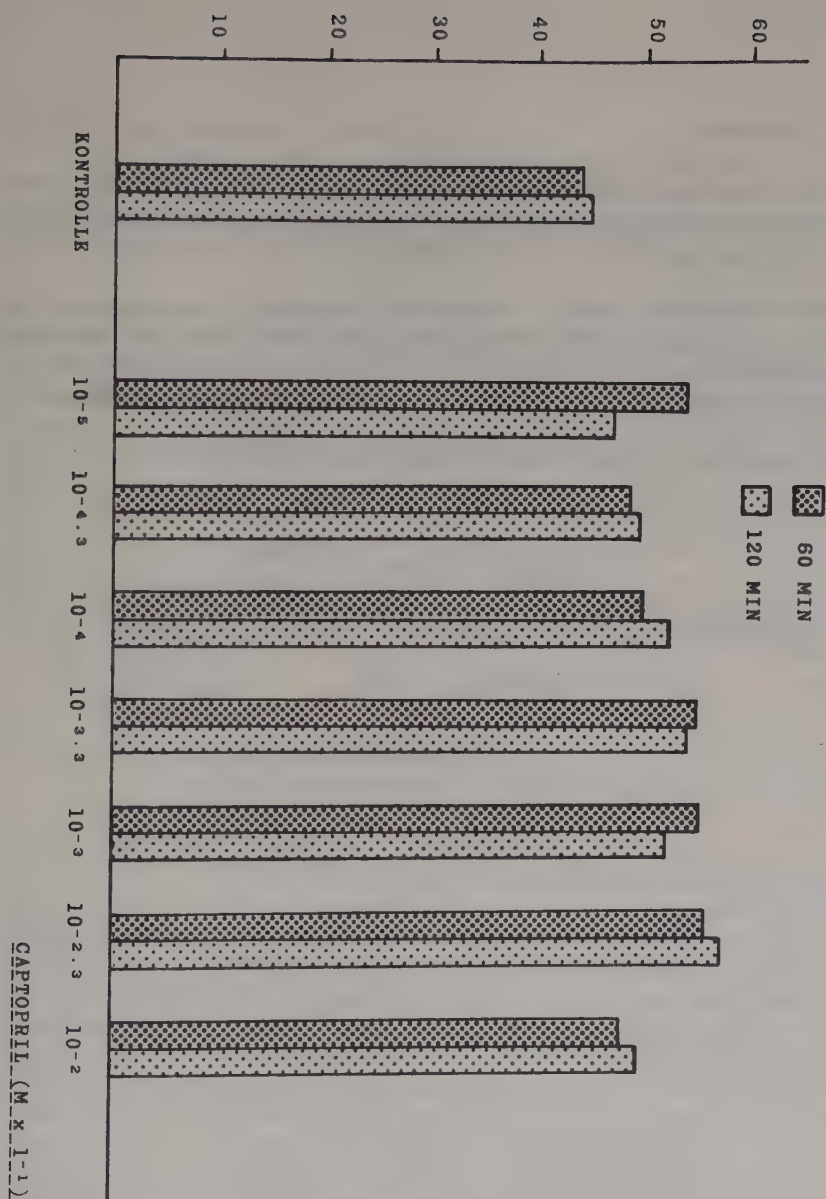


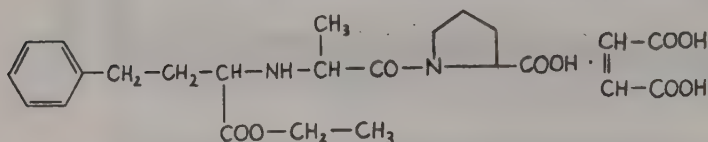
Diagramm 3d: Einfluß von Captopril auf die Geschwindigkeit
(Vergleich der 60- und 120-Minuten-Werte)

4.4. ENALAPRIL

Der Einfluß von Enalaprilat (Xanef[®]), einem spezifischen, therapeutisch verwendeten ACE-Hemmer, auf die Spermatozoen-Motilität in vitro wurde ebenfalls untersucht.

Enalaprilat zeigte zwar - ebenso wie Captopril - keinerlei hemmenden Einfluß auf die Spermatozoen-Motilität oder die mittlere Geschwindigkeit, hatte aber in unseren Versuchen auch keinen motilitätssteigernden Effekt.

Strukturformel von Enalaprilhydrogenmaleat (MW: 348.1):



**Tabelle 4a: Einfluß von Enalaprilat
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen**

Konzentration (M x l ⁻¹)	Motilität (%) nach 60 min				Motilität (%) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	39	41	47	42.3	31	47	43	40.3
10 ⁻³	25	45	57	42.3	41	48	30	39.7
10 ^{-3.3}	39	55	38	44.0	41	49	50	46.7
10 ⁻⁴	27	34	52	37.6	35	42	44	40.3
10 ^{-4.3}	50	56	51	52.3	29	35	44	36.0
10 ⁻⁵	36	53	42	43.6	32	50	47	43.0
10 ^{-5.3}	45	56	39	46.6	42	30	52	41.3
10 ⁻⁶	34	51	40	41.6	25	55	39	39.7

**Tabelle 4b: Einfluß von Enalaprilat
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen**

Konzentration (M x l ⁻¹)	Geschwindigkeit (um/s) nach 60 min				Geschwindigkeit (um/s) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	32.6	38.1	39.1	36.5	31.6	40.0	31.6	34.4
10 ⁻³	33.5	46.5	36.3	38.7	33.5	38.1	35.3	35.6
10 ^{-3.3}	33.5	35.3	41.9	36.5	32.6	50.2	35.3	39.3
10 ⁻⁴	33.5	41.9	38.1	37.9	33.5	46.5	36.3	38.8
10 ^{-4.3}	36.3	44.6	31.6	37.5	36.3	47.4	29.8	37.9
10 ⁻⁵	37.2	40.9	38.1	38.8	34.4	40.0	27.0	33.8
10 ^{-5.3}	37.2	44.6	36.3	39.3	32.6	51.2	27.9	37.2
10 ⁻⁶	35.3	46.5	34.4	38.8	33.5	39.1	27.0	33.1

MOTILITÄT
NACH 60 MIN. (%)

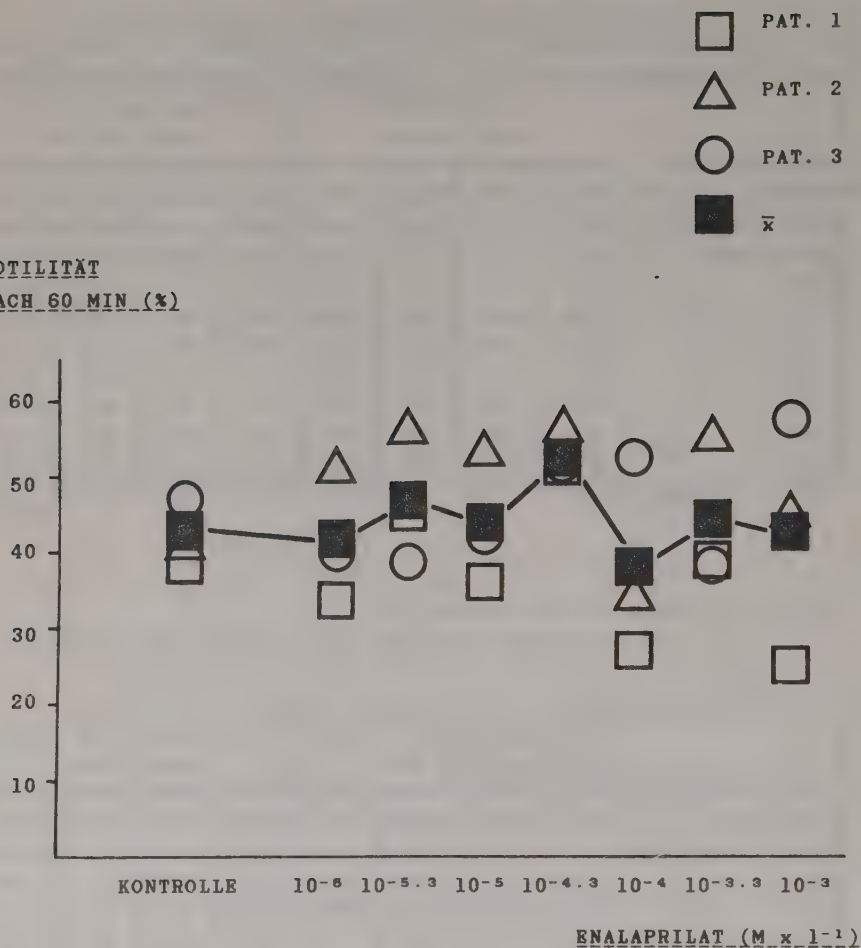


Diagramm 4a: Einfluß von Enalaprilat
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

GESCHWINDIGKEIT
NACH 60 MIN (µm/s)

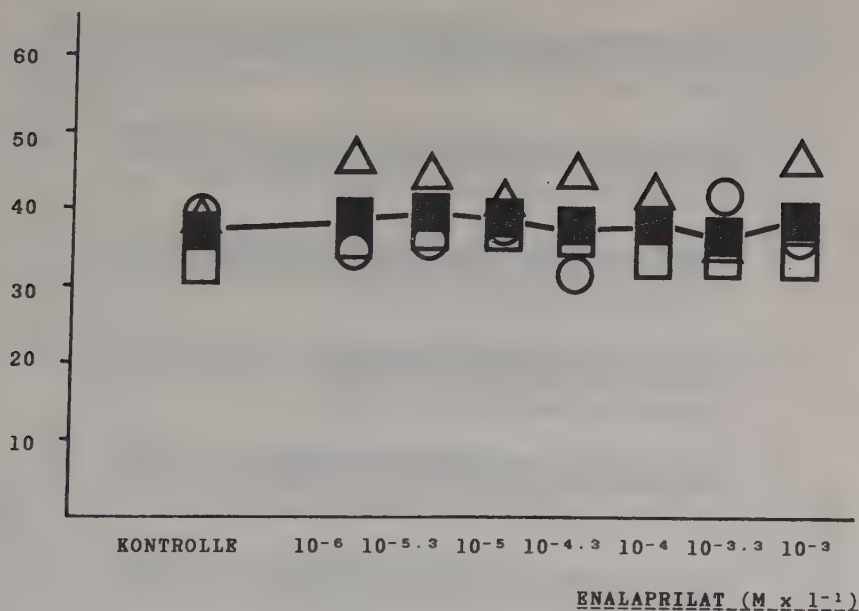
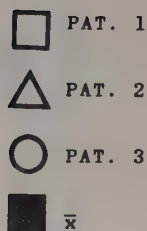


Diagramm 4b: Einfluß von Enalaprilat
 auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen
 (60-Minuten-Werte)

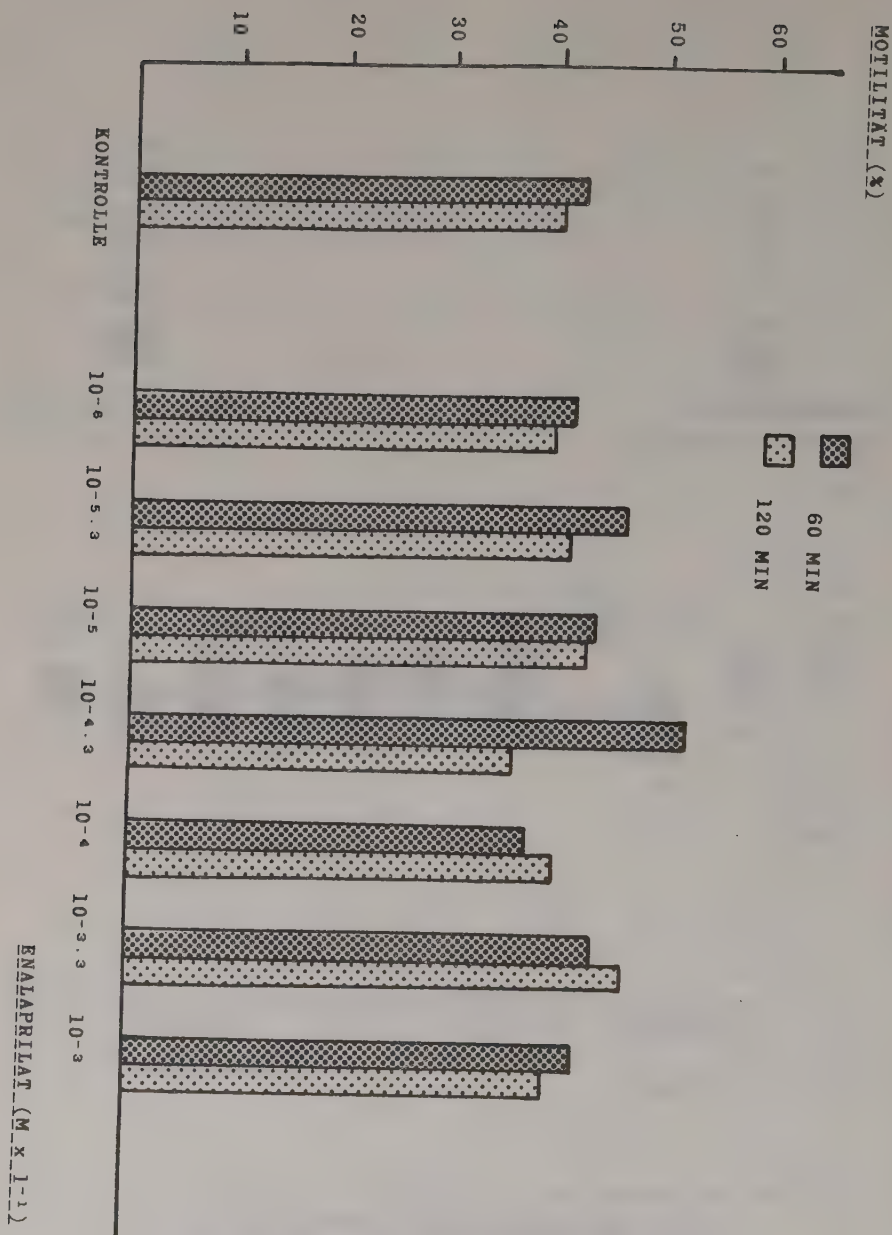


Diagramm 4c: Einfluß von Enalaprilat auf die Motilität
(Vergleich der 60- und 120-Minuten-Werte)

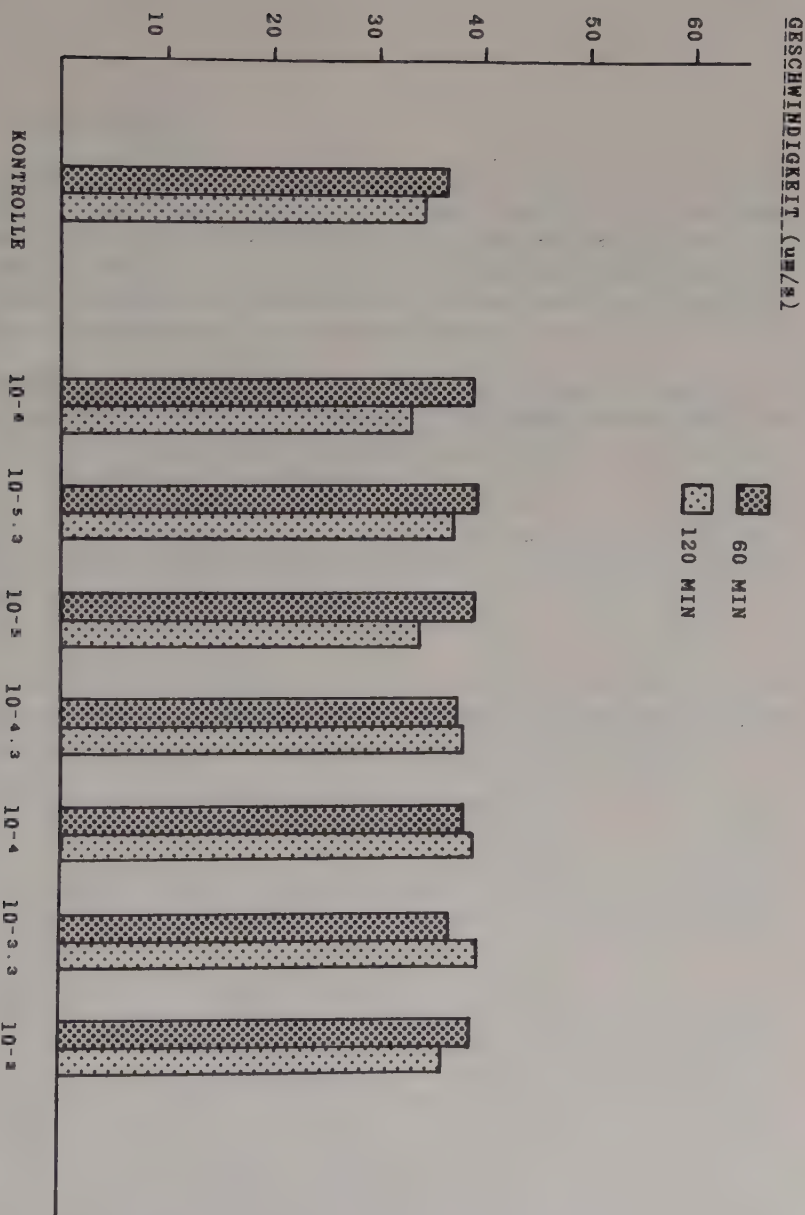


Diagramm 4d: Einfluß von Enalaprilat auf die Geschwindigkeit
(Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

6. 7. 8. 9. 10.

11. 12. 13. 14. 15.

16. 17. 18. 19. 20.

21. 22. 23. 24. 25.

26. 27. 28. 29. 30.

31. 32. 33. 34. 35.

36. 37. 38. 39. 40.

41. 42. 43. 44. 45.

4.5. TRIFLUOPERAZIN

Das Psychopharmakon Trifluoperazin (Jatroneural[®]) wird therapeutisch seit langem als Neuroleptikum eingesetzt. Seine Anwendungsgebiete sind in erster Linie paranoide und hebephrene Schizophrenien (41), aber auch reaktive Depressionen, Angst- und Spannungszustände, kardiovaskuläre und gastrointestinale Erkrankungen, Kopfschmerzen und Asthma bronchiale (146).

Trifluoperazin (Jatroneural[®]) ist ein spezifischer Antagonist des kalziumbindenden Proteins Calmodulin. Wir untersuchten den Einfluß von Trifluoperazin auf die Motilität und mittlere Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen.

Eine beginnende Hemmung der Motilität und Geschwindigkeit zeigte sich bei einer Konzentration von $10^{-4} \text{ M} \times \text{l}^{-1}$; eine vollständige Hemmung wurde bei einer Konzentration von $10^{-3.7} \text{ M} \times \text{l}^{-1}$ erreicht.

Wegen der außerordentlich rasch eintretenden Hemmwirkung dieser Substanz wurden die Messungen bereits nach 15, 30 und 45 Minuten Inkubation durchgeführt, außerdem nach 60 und 90 Minuten.

Strukturformel von Trifluoperazin (MW: 480.4):

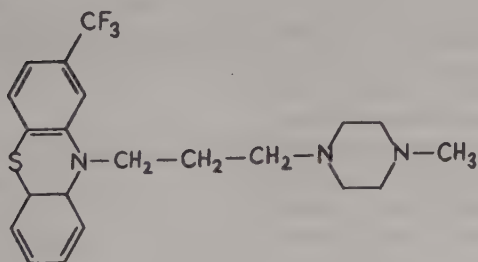


Tabelle 5a: Einfluß von Trifluoperazin
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen

Konzentration (M x l ⁻¹)	Motilität (%) nach 15 min				Motilität (%) nach 30 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	26.7	5.9	11.3	14.6	17.3	10.0	23.8	17.0
10 ^{-3.7}	5.0	0	0	1.7	0	0	0	0
10 ⁻⁴	6.0	0	8.6	4.9	15.3	0	7.2	7.5
10 ^{-4.7}	6.6	9.1	14.3	10.0	31.9	8.6	15.0	18.5
10 ⁻⁵	10.9	14.7	22.8	16.1	18.3	11.9	12.7	14.3
10 ^{-5.7}	7.6	12.6	21.8	14.0	29.3	17.0	11.1	19.1

Konzentration (M x l ⁻¹)	Motilität (%) nach 45 min				Motilität (%) nach 60 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	24.3	16.9	17.0	19.4	11.0	9.5	10.3	10.3
10 ^{-3.7}	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ⁻⁴	14.1	0	13.7	9.3	3.6	0	6.9	3.5
10 ^{-4.7}	15.9	12.6	21.4	16.6	15.1	20.3	19.2	18.2
10 ⁻⁵	21.2	9.1	20.8	17.0	10.2	8.4	12.3	10.3
10 ^{-5.7}	15.4	7.2	20.5	14.4	13.2	8.7	9.5	10.5

Konzentration (M x l ⁻¹)	Motilität (%) nach 90 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	16.8	11.3	13.3	13.8
10 ^{-3.7}	0	0	0	0
10 ⁻⁴	10.9	0	5.4	5.4
10 ^{-4.7}	12.1	19.6	20.8	17.5
10 ⁻⁵	9.1	21.1	19.7	16.6
10 ^{-5.7}	13.1	21.4	16.0	16.8

Tabelle 5b: Einfluß von Trifluoperazin
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen

Konzentration (M x l ⁻¹)	Geschwindigkeit (um/s) nach 15 min				Geschwindigkeit (um/s) nach 30 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	57.5	65.3	44.1	55.6	51.7	46.1	53.2	50.3
10 ^{-3.7}	37.1	0	0	37.1	0	0	0	0
10 ⁻⁴	54.0	0	36.2	45.1	50.6	0	40.0	45.3
10 ^{-4.7}	64.4	42.5	48.8	51.9	61.8	36.4	40.7	46.3
10 ⁻⁵	55.8	54.1	48.4	52.8	62.0	47.7	43.5	51.1
10 ^{-5.7}	59.2	49.5	52.2	53.6	56.8	43.9	40.7	47.1

Konzentration (M x l ⁻¹)	Geschwindigkeit (um/s) nach 45 min				Geschwindigkeit (um/s) nach 60 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	64.0	67.1	65.6	65.6	52.8	48.6	51.9	51.1
10 ^{-3.7}	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ⁻⁴	52.6	0	39.2	45.9	42.5	0	44.8	43.7
10 ^{-4.7}	50.7	45.3	41.5	45.8	60.0	43.7	49.7	51.1
10 ⁻⁵	58.0	44.6	40.8	47.8	57.1	45.8	46.2	49.7
10 ^{-5.7}	68.5	44.3	43.7	52.2	54.1	35.6	41.4	43.7

Konzentration (M x l ⁻¹)	Geschwindigkeit (um/s) nach 90 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	56.7	55.6	46.3	52.9
10 ^{-3.7}	0	0	0	0
10 ⁻⁴	50.0	0	38.5	44.3
10 ^{-4.7}	57.7	44.7	40.6	47.7
10 ⁻⁵	45.3	47.4	49.5	47.4
10 ^{-5.7}	50.0	40.9	40.9	43.9

MOTILITÄT
NACH 15 MIN. (%)

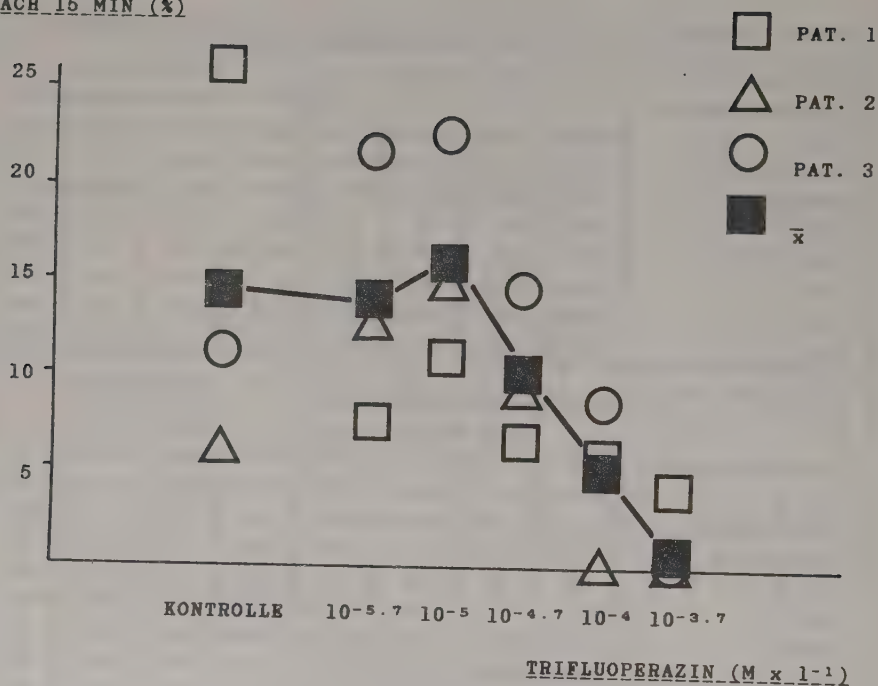


Diagramm 5a: Einfluß von Trifluoperazin
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen
(15-Minuten-Werte)

GESCHWINDIGKEIT

NACH 15 MIN (um/s))

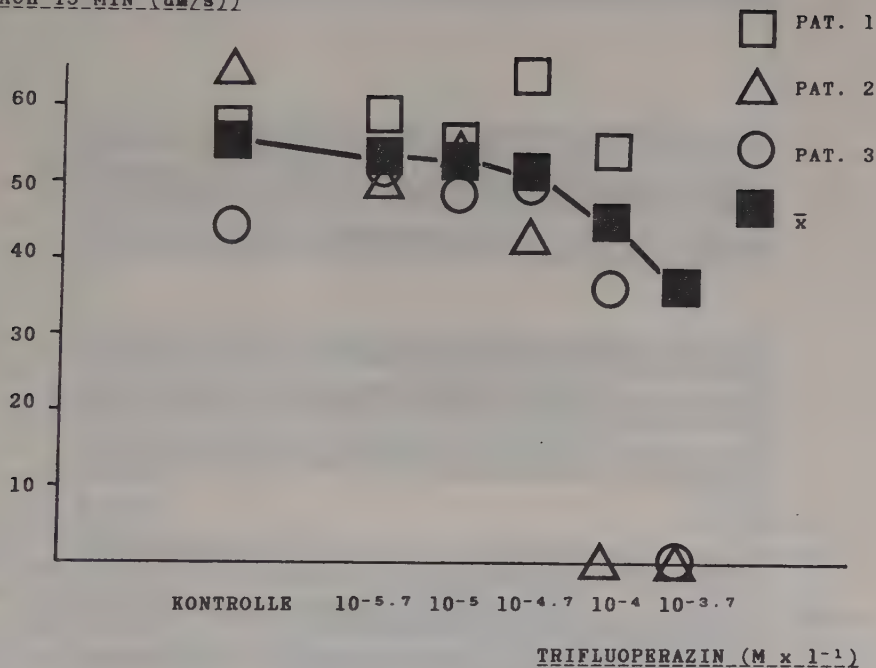
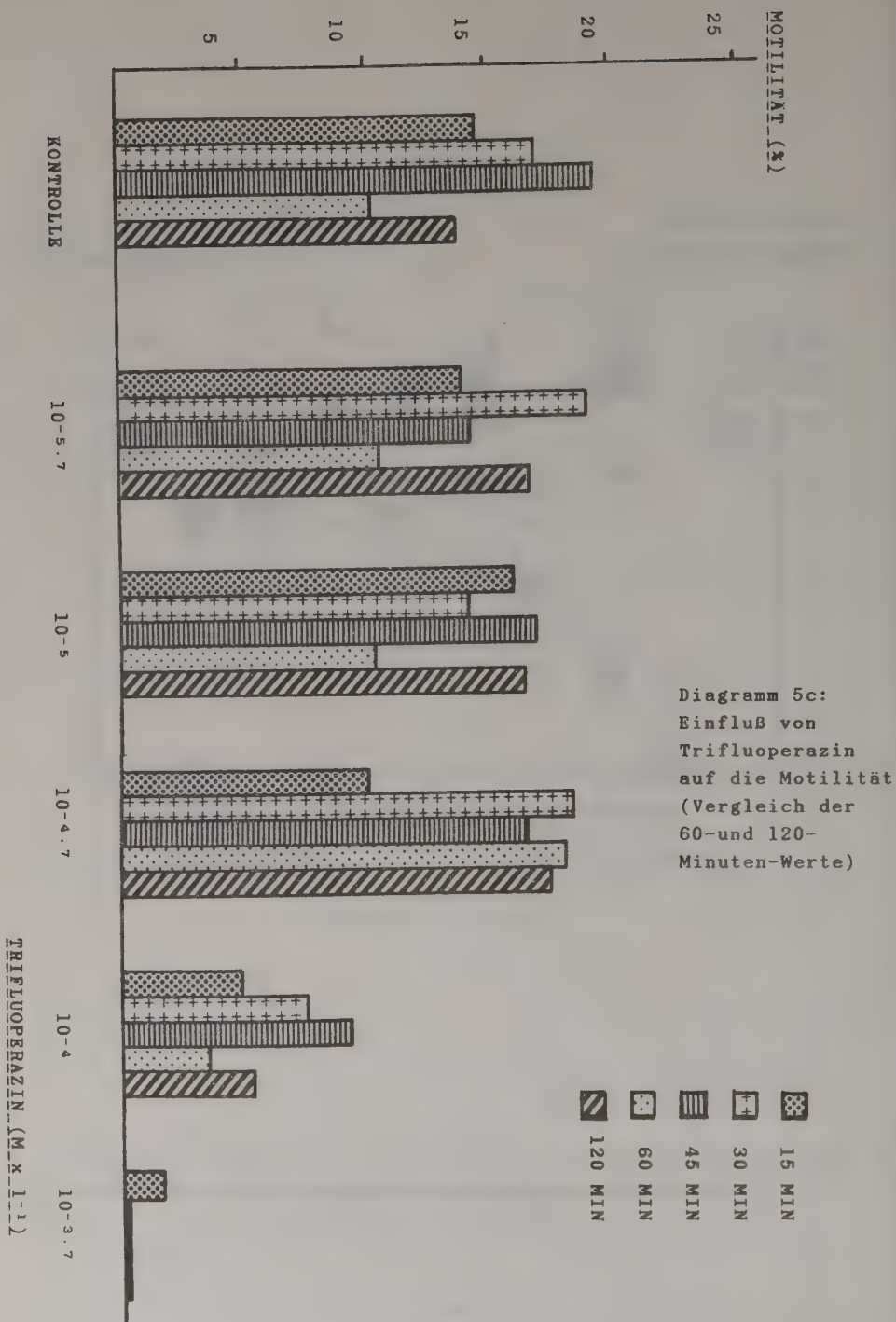
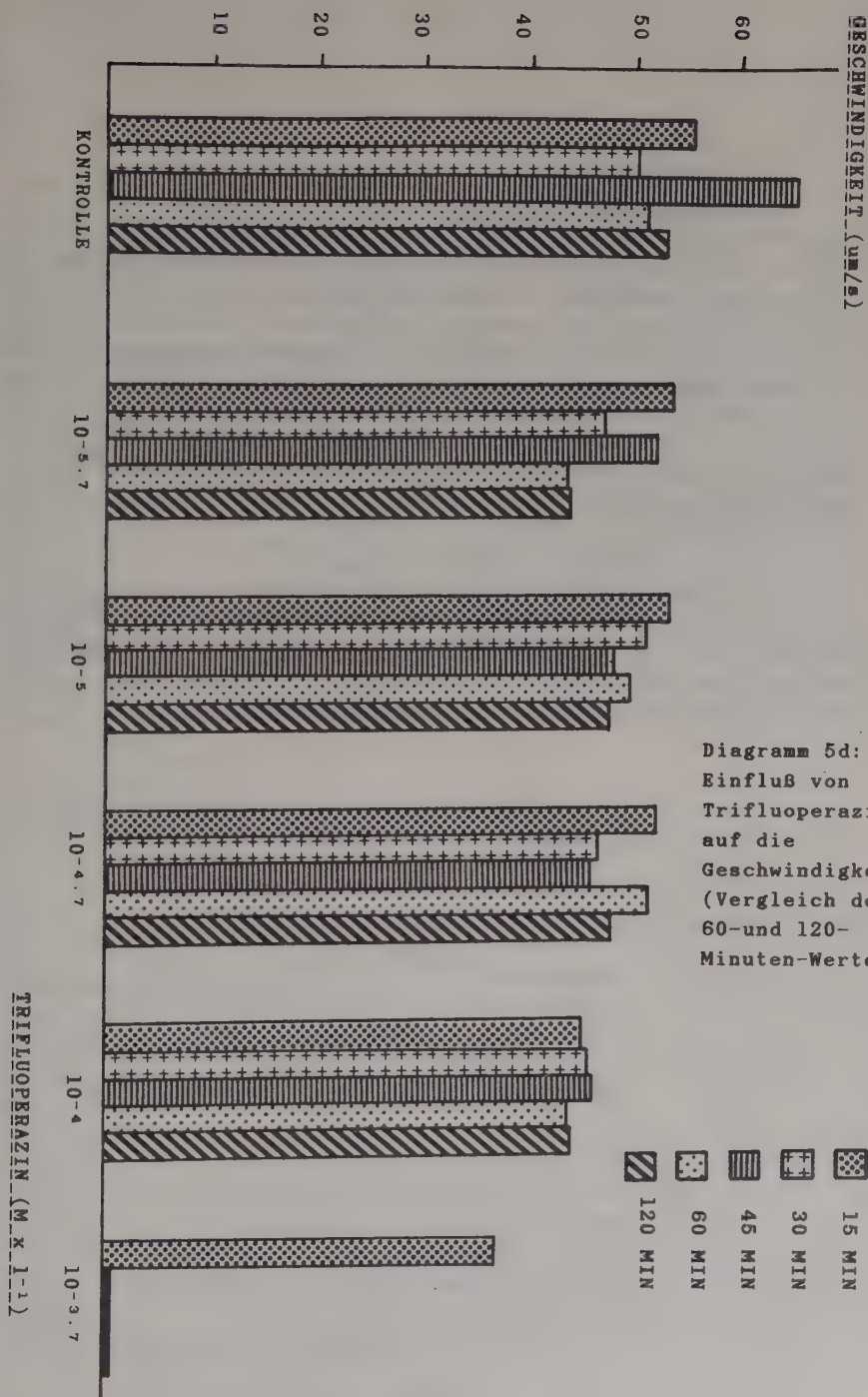


Diagramm 5b: Einfluß von Trifluoperazin
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen
(15-Minuten-Werte)



GESCHWINDIGKEIT (um/sec)



4.6. ALPHA-BUNGAROTOXIN

Alpha-Bungarotoxin ist einer der Bestandteile des Giftes der auf Formosa vorkommenden Schlange *Bungarus multicinctus*. Es ist in der Lage, die Acetylcholin-Rezeptoren an der motorischen Endplatte der neuromuskulären Synapse zu blockieren. Hierzu wird Alpha-Bungarotoxin nahezu irreversibel vom Acetylcholin-Rezeptor gebunden und wurde deshalb vielfach als kompetitiver Hemmstoff eingesetzt (137).

Chemisch gesehen ist Alpha-Bungarotoxins ein Polypeptid aus 74 Aminosäuren mit 5 Disulfid-Brücken (16). Sein Molekulargewicht beträgt ca. 8000.

Wir untersuchten den Einfluß dieses Acetylcholin-Rezeptoren-Blockers auf die Motilität und Geschwindigkeit der menschlichen Spermatozoen. Als Ergebnis wurde gefunden, daß sowohl Motilität als auch Geschwindigkeit der Spermatozoen bei einer Konzentration von $10^{-4.3} \text{ M} \times 1^{-1}$ vollständig gehemmt wurden.

**Tabelle 6a: Einfluß von Alpha-Bungarotoxin
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen**

Konzentration (M x l ⁻¹)	Motilität (%) nach 60 min				Motilität (%) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	23.8	14.8	10.6	16.4	8.0	10.3	13.3	10.5
10 ^{-4.3}	1.7	0	0	0.6	0	0	0	0
10 ⁻⁵	25.5	2.9	0	9.5	21.1	0.5	0	7.2
10 ^{-5.3}	24.7	5.1	10.1	13.3	11.0	17.8	13.4	14.1
10 ⁻⁶	20.1	12.1	19.2	17.1	8.5	13.0	15.2	12.2
10 ^{-6.3}	23.6	8.7	8.6	13.6	16.2	7.3	5.0	9.5
10 ⁻⁷	18.3	10.5	10.2	13.0	16.9	15.4	16.6	16.3
10 ^{-7.3}	16.6	12.6	5.7	11.6	15.4	23.5	15.9	18.3
10 ⁻⁸	10.4	7.3	10.7	9.5	10.4	19.4	18.3	16.0

**Tabelle 6b: Einfluß von Alpha-Bungarotoxin
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen**

Konzentration (M x l ⁻¹)	Geschwindigkeit (um/s) nach 60 min				Geschwindigkeit (um/s) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	42.7	45.0	52.5	46.6	47.2	41.3	56.7	48.4
10 ^{-4.3}	30.0	0	0	30.0	0	0	0	0
10 ⁻⁵	49.7	36.7	36.7	43.2	49.4	0	0	49.4
10 ^{-5.3}	48.7	40.0	56.0	48.2	40.9	48.4	52.9	47.4
10 ⁻⁶	55.0	50.4	60.7	55.4	43.9	44.8	54.6	47.8
10 ^{-6.3}	47.2	44.4	64.7	52.1	43.9	60.0	62.2	55.4
10 ⁻⁷	41.1	52.4	53.3	48.9	40.5	57.1	56.2	51.3
10 ^{-7.3}	51.1	47.0	36.7	44.9	49.1	50.5	51.5	50.4
10 ⁻⁸	41.5	45.7	60.0	49.1	38.8	41.4	55.4	45.2

MOTILITÄT

NACH 60 MIN. (%)

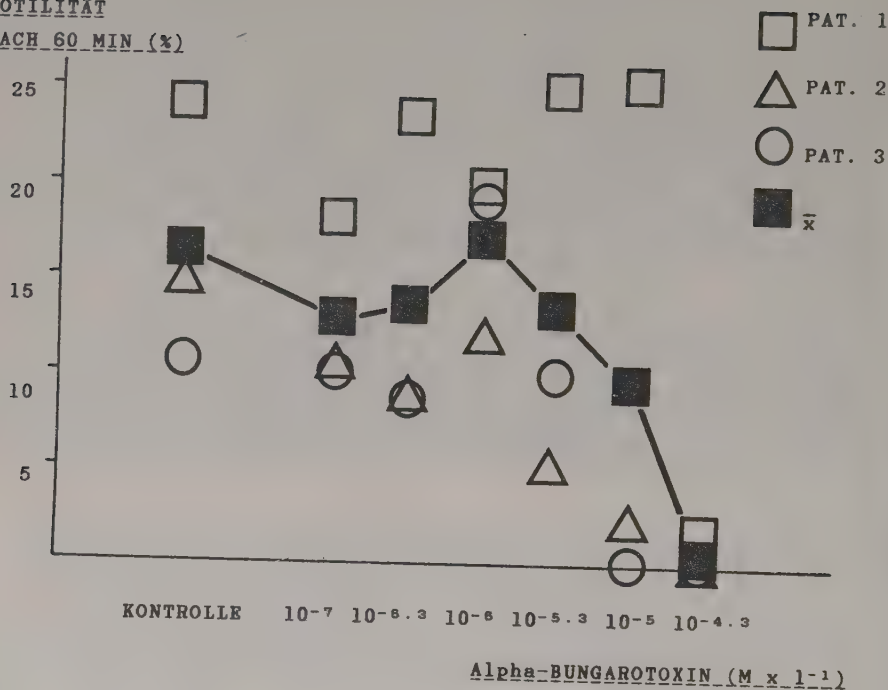


Diagramm 6a: Einfluß von Alpha-Bungarotoxin
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

GESCHWINDIGKEIT

NACH 60 MIN (um/s)

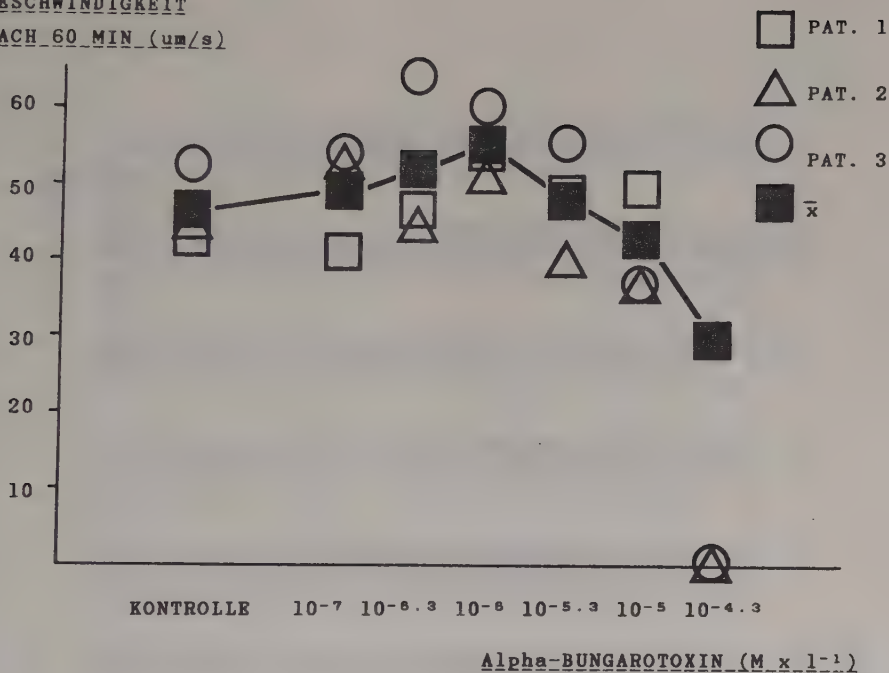


Diagramm 6b: Einfluß von Alpha-Bungarotoxin
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

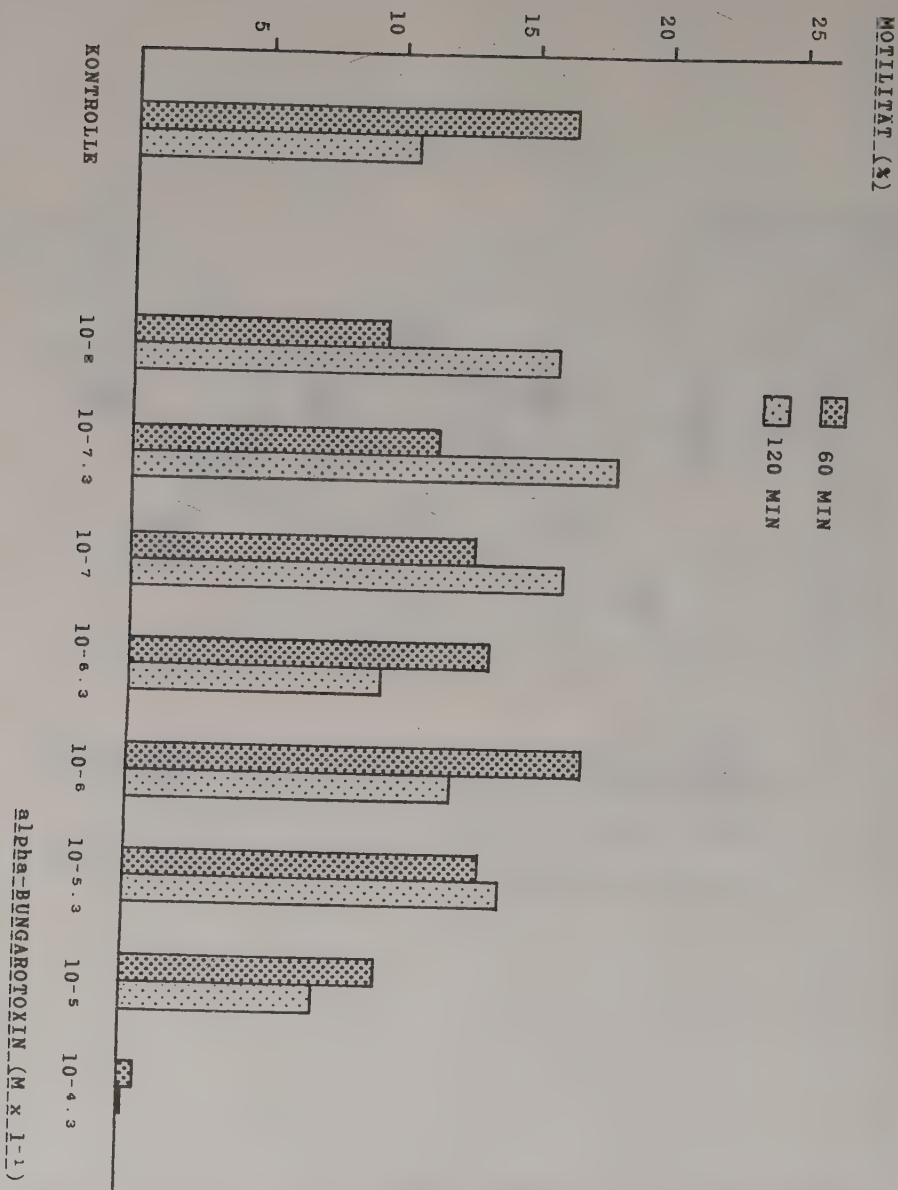


Diagramm 6c: Einfluß von Alpha-Bungarotoxin auf die Motilität
(Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

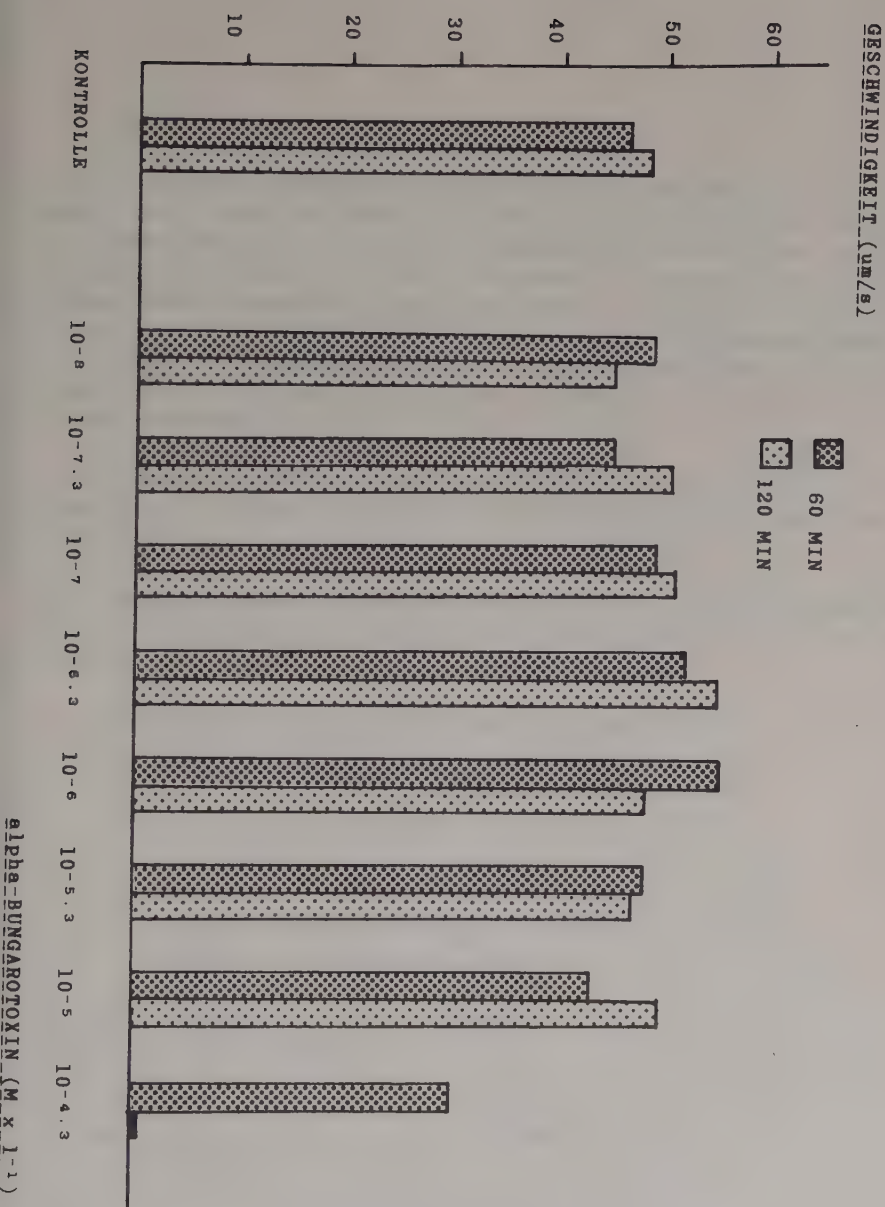


Diagramm 6d: Einfluß von Alpha-Bungarotoxin auf die Geschwindigkeit
(Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

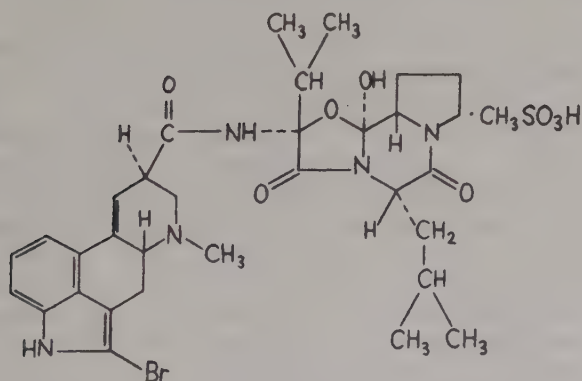
4.7. BROMOCRIPTIN

Das aus Mutterkornalkaloiden entwickelte Pharmakon Bromocriptin (Pravidel[®]) hat drei therapeutische Wirkungen. Es stimuliert die striären Dopaminrezeptoren und kompensiert deshalb den Dopaminmangel bei Morbus-Parkinson-Patienten. Zweitens senkt es den Wachstumshormonspiegel und kommt daher bei Akromegalie zum Einsatz. Drittens ist Bromocriptin in der Lage, die Freisetzung von Prolactin aus dem Hypophysenvorderlappen spezifisch zu hemmen, weswegen es bei Hyperprolactinämie (Galactorrhoe-Amenorrhoe-Syndrom) verabreicht wird.

Die bekannten Wirkungen von Bromocriptin auf Ionenfluxe führten uns dazu, seinen Einfluß auf die Motilität der Spermatozoen zu untersuchen.

Wir konnten jedoch keinerlei hemmenden oder stimulierenden Einfluß auf die Spermatozoen-Motilität und -Geschwindigkeit aufzeigen.

Strukturformel von Bromocriptinmesilat (MW: 750.7):



4.7.1. N,N-DIMETHYLFORMAMID ALS LÖSUNGSVERMITTLER

Da sich Bromocriptin in wässrigem Milieu nicht in Lösung bringen läßt, verwandten wir DMF als Lösungsvermittler. Da die Substanz nur in einem relativ hoch konzentrierten DMF-Puffergemisch (1:2 verdünnt) in Lösung zu bringen war, und da in den Vorversuchen bei dieser Konzentration bereits eine geringfügige Hemmwirkung auf die Spermatozoen-Motilität eintrat, verwandten wir bei den Kontrollexperimenten ebenfalls eine DMF-Konzentration von 1:2.

**Tabelle 7a: Einfluß von Bromocriptin Mesilat
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen**

Konzentration (M x l ⁻¹)	Motilität (%) nach 60 min				Motilität (%) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	29	29	27	28.3	21	16	19	18.6
10 ⁻³	28	23	24	25.0	31	22	23	25.3
10 ^{-3.3}	23	15	21	19.6	20	16	14	16.6
10 ⁻⁴	31	22	31	28.0	20	11	19	16.6
10 ^{-4.3}	25	22	25	24.0	27	19	26	24.0
10 ⁻⁵	23	21	24	22.6	28	21	19	22.6
10 ^{-5.3}	26	22	20	22.6	26	19	20	21.6

**Tabelle 7b: Einfluß von Bromocriptin Mesilat
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen**

Konzentration (M x l ⁻¹)	Geschwindigkeit (um/s) nach 60 min				Geschwindigkeit (um/s) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	42.8	38.3	37.3	39.5	41.2	38.7	40.0	40.0
10 ⁻³	40.9	34.4	36.7	37.3	41.9	40.9	39.2	40.6
10 ^{-3.3}	41.1	36.3	37.7	38.4	39.5	32.6	36.7	36.3
10 ⁻⁴	40.0	38.1	36.3	38.1	36.3	34.4	37.5	36.1
10 ^{-4.3}	49.3	34.4	38.7	40.8	42.5	37.2	36.3	38.7
10 ⁻⁵	44.6	35.3	39.1	39.6	36.3	36.3	37.7	36.8
10 ^{-5.3}	41.9	39.1	38.7	38.9	42.8	35.6	36.7	38.4

MOTILITÄT

NACH 60 MIN (%)

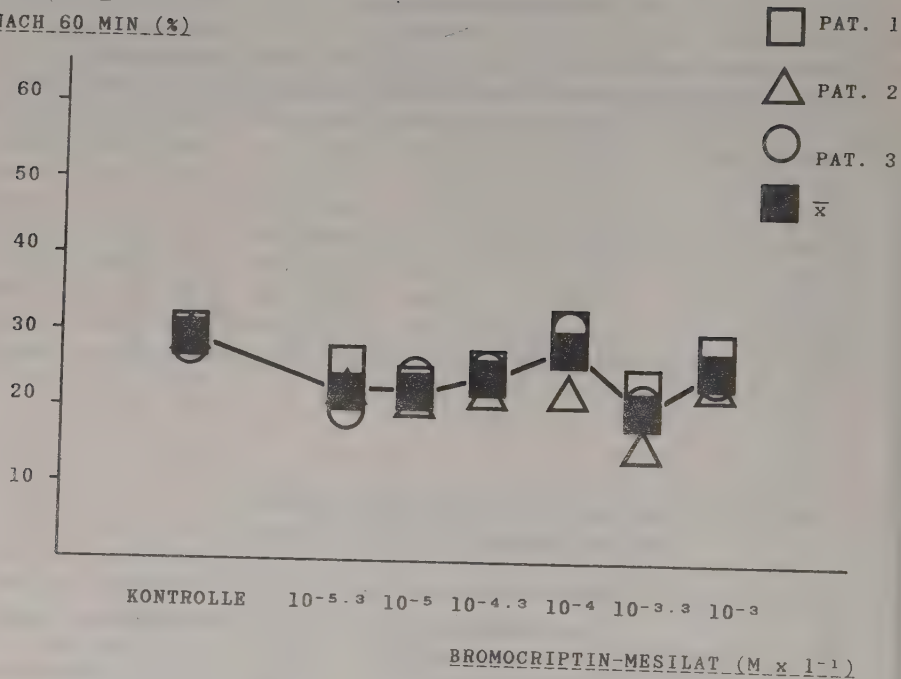


Diagramm 7a: Einfluß von Bromocriptin-Mesilat
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

GESCHWINDIGKEIT

NACH 60 MIN (um/s)

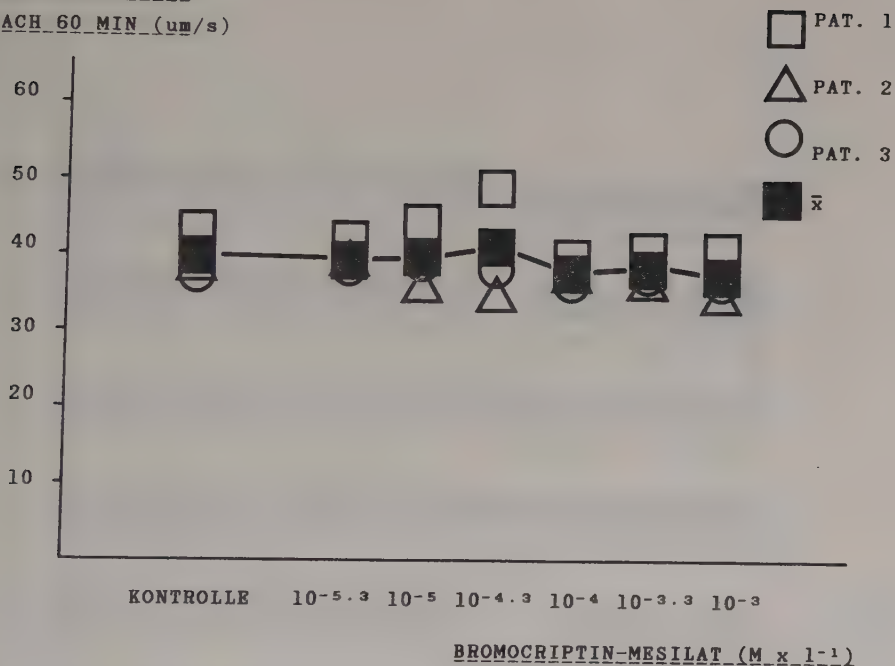
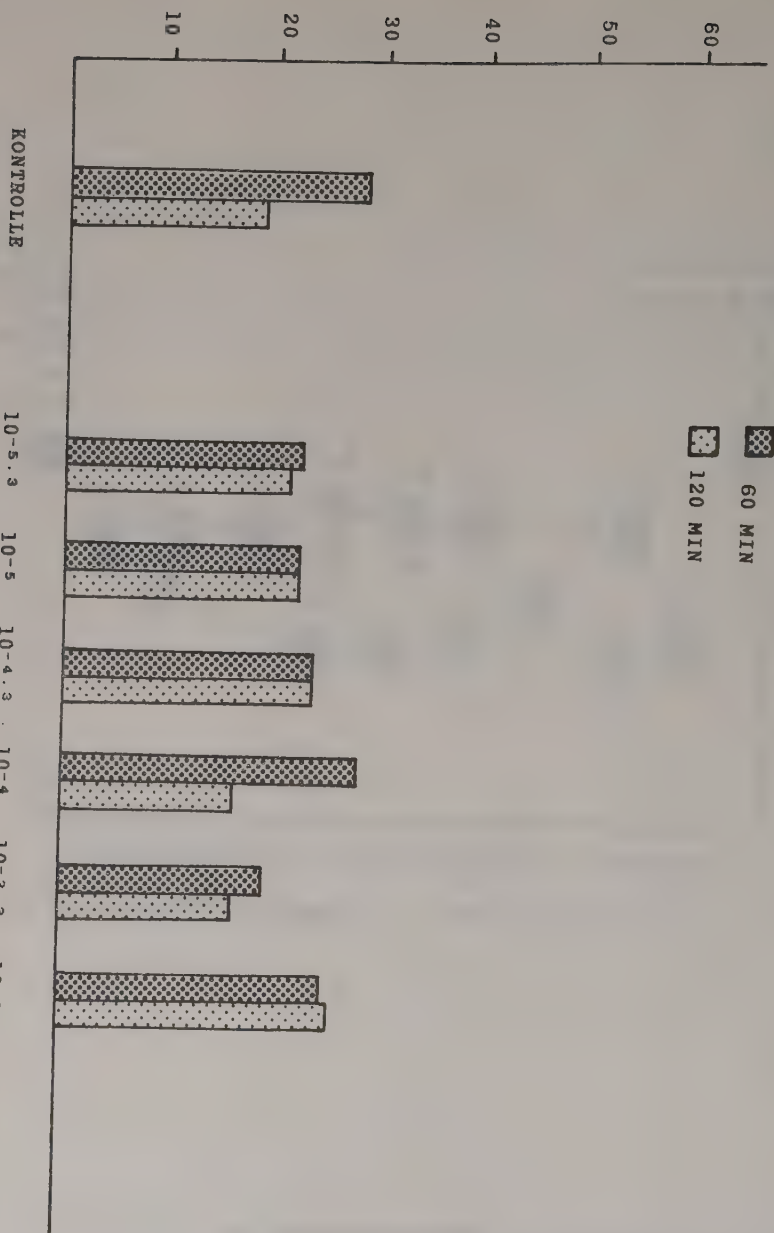


Diagramm 7b: Einfluß von Bromocriptin-Mesilat
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

MOTILITÄT (%)



BROMOCRIPTIN-MESILAT (M x 1⁻¹)

Diagramm 7c: Einfluß von Bromocriptin-Mesilat auf die Motilität
(Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

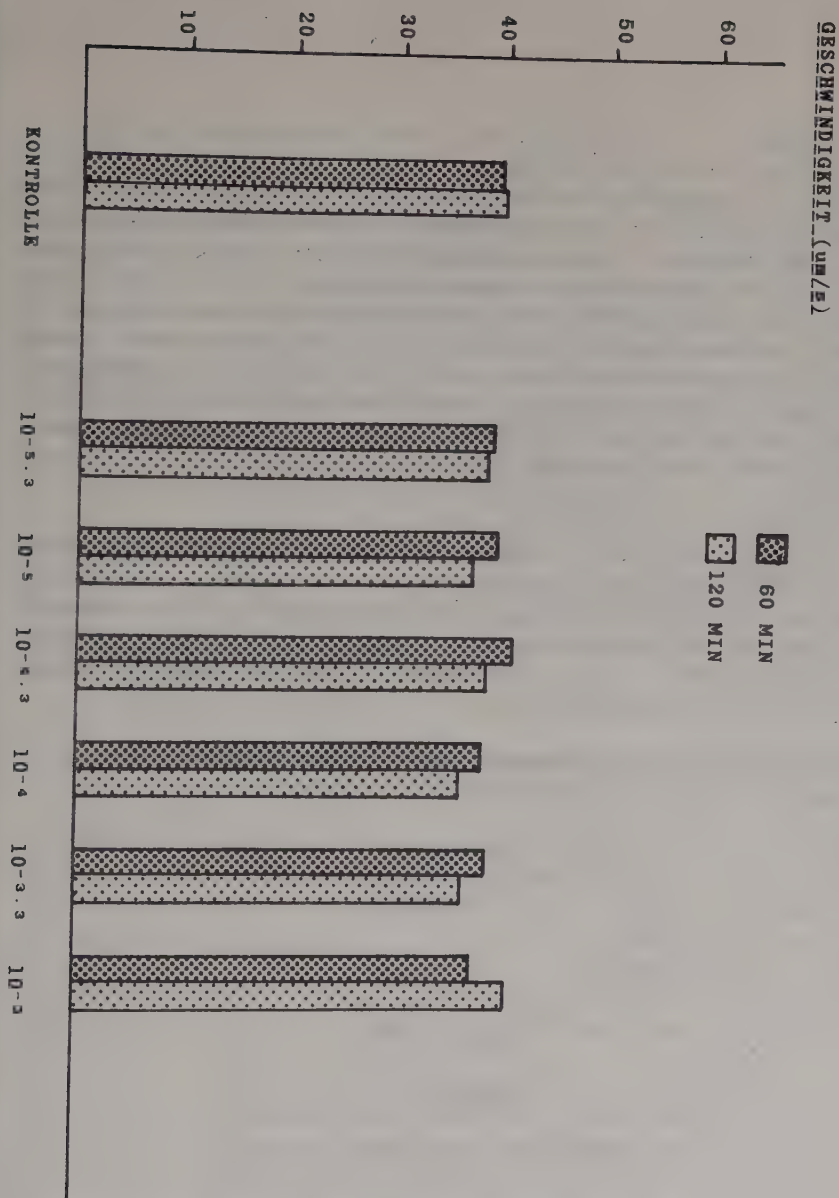


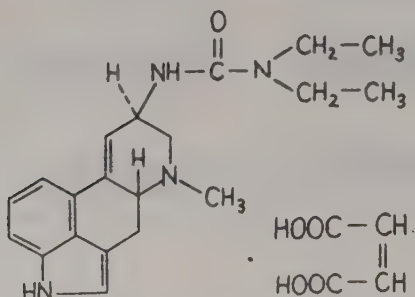
Diagramm 7d: Einfluß von Bromocriptin-Mesilat auf die Geschwindigkeit
(Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

4.8 LISURID

Ähnlich wie Bromocriptin wirkt auch Lisurid (Dopergin[®]) als Dopaminagonist und dient zur Behandlung von Dopamin-Mangelerkrankungen. Der Wirkstoff Lisuridhydrogenmaleat hat eine ausgesprochene Affinität zu spezifischen Dopaminrezeptoren in der Hypophyse, über die er unabhängig von der Ursache physiologische und pathologisch erhöhte Prolaktinspiegel senkt. Der Hemm-Effekt dieser Verbindung war deutlicher ausgeprägt als bei allen anderen Derivaten der Mutterkornalkaloide einschließlich Bromocriptin (58). Zudem ist die für Mutterkornalkaloide sonst typische Gefäßkonstriktion und Uteruskontraktion bei Lisurid fast nicht feststellbar (57).

Wir analysierten den Einfluß von Lisuridhydrogenmaleat auf die Spermatozoen-Motilität und mittlere Geschwindigkeit. Bei dieser Substanz ließ sich - im Gegensatz zu Bromocriptin - eine Hemmwirkung nachweisen. Eine beginnende Hemmung wurde bei einer Konzentration von $10^{-3.5} \text{ M} \times \text{l}^{-1}$ festgestellt, die vollständige Hemmung wurde bei einer Konzentration von $10^{-3.2} \text{ M} \times \text{l}^{-1}$ erreicht.

Strukturformel von Lisuridhydrogenmaleat (MW: 454.5):



4.8.1. N,N-DIMETHYLFORMAMID ALS LÖSUNGSVERMITTLER

Auch bei Lisuridhydrogenmaleat mußten wir DMF als Lösungsvermittler einsetzen und verdünnten die Substanz im Verhältnis 1:2 mit Tyrode.

**Tabelle 8a: Einfluß von Lisurid Hydrogenmaleat
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen**

Konzentration (M x l ⁻¹)	Motilität (%) nach 60 min				Motilität (%) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	22	30	23	25.0	26	33	28	29.0
10 ^{-3.2}	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ^{-3.5}	8	12	14	11.3	7	16	15	12.6
10 ^{-4.2}	15	36	28	26.3	20	33	31	28.0
10 ^{-4.5}	7	15	24	15.3	11	25	26	20.6
10 ^{-5.2}	13	32	21	22.0	17	33	24	24.6
10 ^{-5.5}	17	39	30	28.6	21	31	29	27.0
10 ^{-6.2}	11	37	26	24.6	12	38	33	27.6

**Tabelle 8b: Einfluß von Lisurid Hydrogenmaleat
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen**

Konzentration (M x l ⁻¹)	Geschwindigkeit (um/s) nach 60 min				Geschwindigkeit (um/s) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	34.3	41.5	39.9	38.6	36.1	41.2	37.5	38.3
10 ^{-3.2}	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ^{-3.5}	27.5	31.8	26.3	28.5	26.8	34.4	31.4	30.9
10 ^{-4.2}	28.3	41.2	29.7	33.1	31.2	39.9	35.7	35.6
10 ^{-4.5}	33.1	36.4	37.9	35.8	33.5	41.2	37.7	37.5
10 ^{-5.2}	38.6	43.4	40.0	40.7	36.9	44.5	37.6	39.7
10 ^{-5.5}	37.2	42.3	42.5	40.7	36.5	47.9	39.8	41.4
10 ^{-6.2}	36.6	39.7	41.9	39.4	34.6	39.9	41.1	38.5

MOTILITÄT

NACH 60 MIN (%)

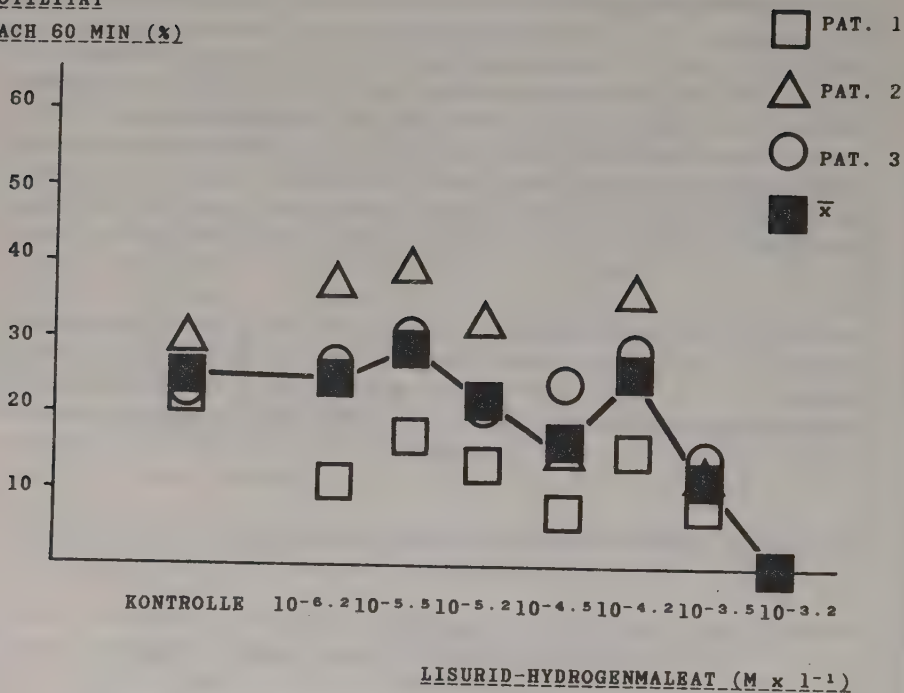


Diagramm 8a: Einfluß von Lisurid-Hydrogenmaleat
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

GESCHWINDIGKEIT

NACH 60 MIN (um/s)

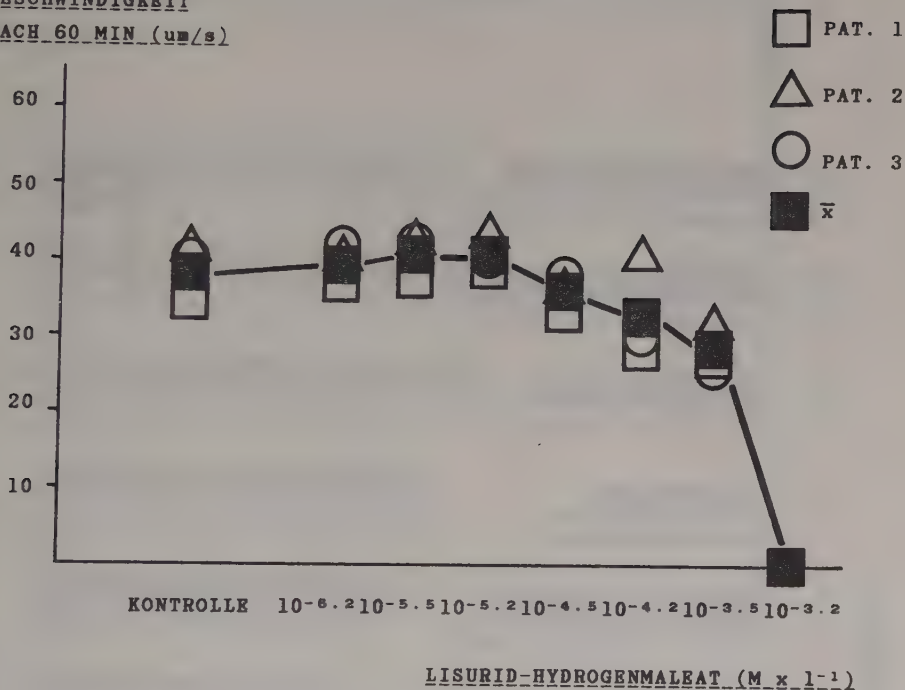


Diagramm 8b: Einfluß von Lisurid-Hydrogenmaleat
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

MOTILITÄT (%)

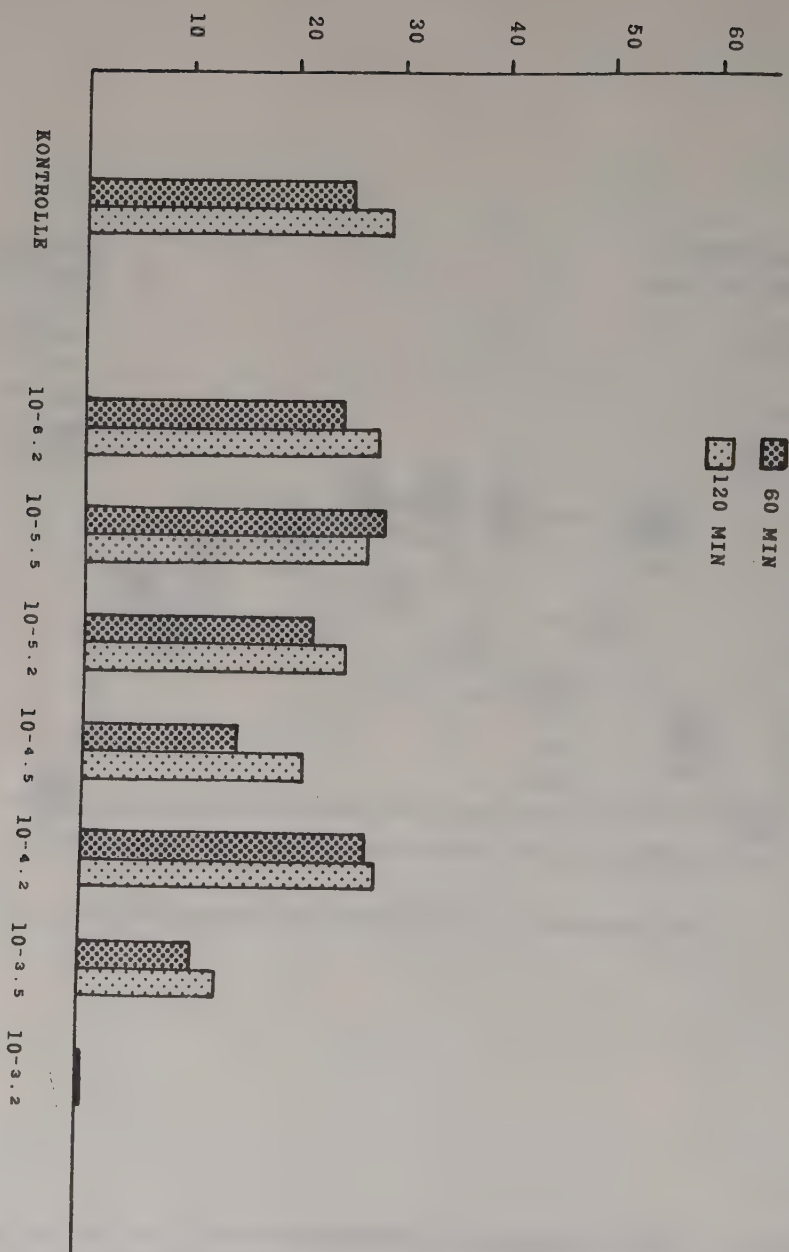


Diagramm 8c: Einfluß von Lisurid-Hydrogenmaleat auf die Motilität
(Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

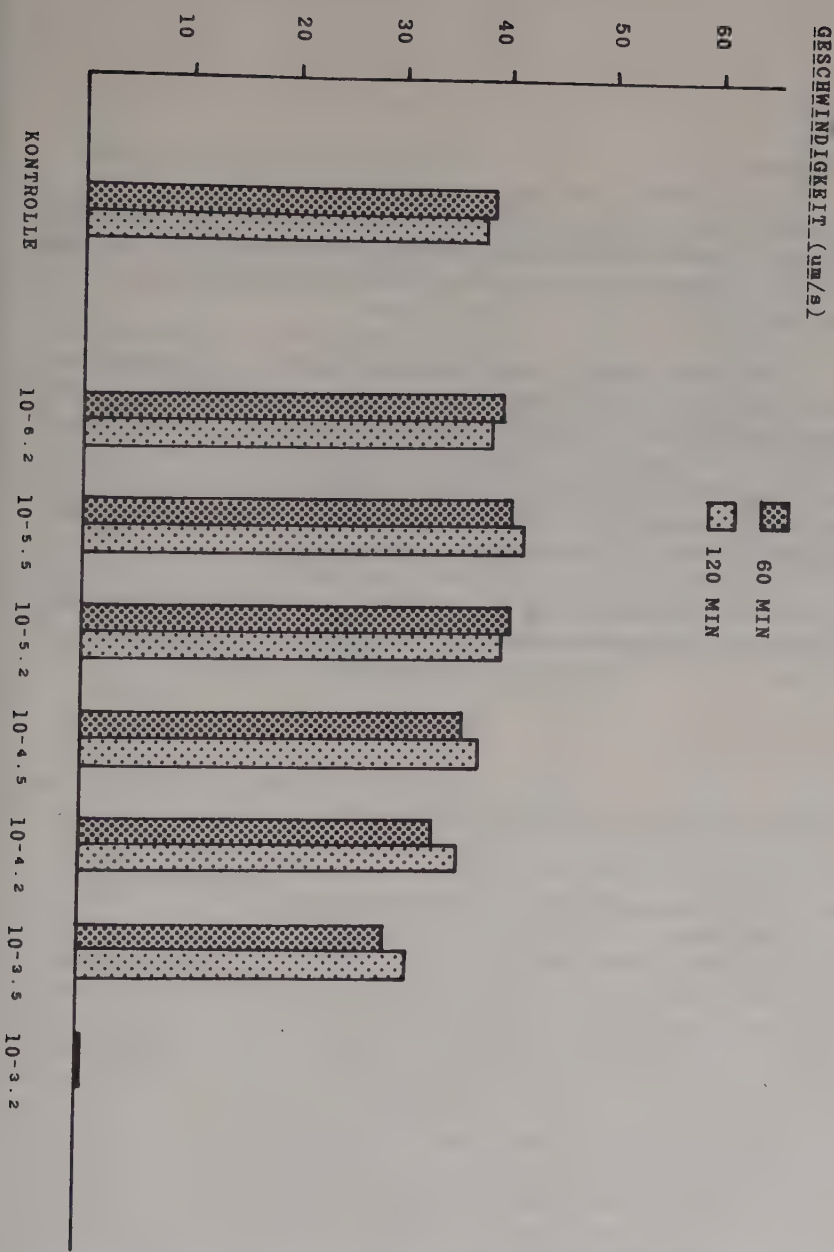


Diagramm 8d: Einfluß von Lisurid-Hydrogenmaleat auf die Geschwindigkeit (Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

4.9. RELAXIN

Über einen stimulierenden Einfluß von Relaxin auf die Motilität menschlicher Spermatozoen in vitro wurde berichtet (31), weiterhin über eine Hemmung der Motilität durch Antikörper gegen porcines Relaxin (121).

Für die Untersuchungen wurde porcines Relaxin, erhalten vom National Institute of Health, Bethesda, Maryland, USA, verwendet. Das Molekulargewicht von Relaxin beträgt ca. 6400.

Wir stellten eine 10^{-3} molare Stammlösung her und von dieser ausgehend eine Verdünnungsreihe. In den Testansätzen erfolgte eine Verdünnung um das Zehnfache mit Tyrode-Lösung.

Ein Einfluß von Relaxin auf die Spermatozoen-Motilität oder die mittlere Geschwindigkeit konnte - im Gegensatz zu den Angaben in der Literatur - in keinem Fall festgestellt werden.

**Tabelle 9a: Einfluß von Relaxin
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen**

Konzentration (M x l ⁻¹)	Motilität (%) nach 60 min				Motilität (%) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	15.7	18.4	26.4	20.2	16.5	20.7	24.1	20.4
10 ⁻⁴	19.9	21.7	22.5	21.4	17.2	20.4	22.2	19.9
10 ^{-4.3}	16.4	20.9	23.9	20.4	15.7	22.3	18.1	18.7
10 ⁻⁵	14.2	17.8	19.2	17.1	19.0	18.6	20.9	19.5
10 ^{-5.3}	16.1	22.6	23.1	20.6	17.0	21.3	22.7	20.3
10 ⁻⁶	14.8	16.7	24.9	18.8	18.3	20.5	25.1	21.3
10 ^{-6.3}	16.3	19.8	27.9	21.3	15.4	19.6	28.0	21.0

**Tabelle 9b: Einfluß von Relaxin
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen**

Konzentration (M x l ⁻¹)	Geschwindigkeit (um/s) nach 60 min				Geschwindigkeit (um/s) nach 120 min			
	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$	Pat.1	Pat.2	Pat.3	$\bar{x}$
Kontrolle	44.7	43.8	47.8	45.4	42.7	47.5	49.8	46.7
10 ⁻⁴	42.9	51.9	46.0	46.9	46.0	42.9	54.2	47.7
10 ^{-4.3}	45.4	52.7	53.7	50.6	47.7	50.2	51.0	49.6
10 ⁻⁵	41.4	46.0	49.4	45.6	39.9	48.8	50.7	46.5
10 ^{-5.3}	45.8	43.8	51.8	47.1	49.1	46.9	46.1	47.4
10 ⁻⁶	46.0	44.9	52.3	47.7	45.8	39.5	52.3	45.9
10 ^{-6.3}	48.1	46.7	49.4	48.1	42.3	44.2	47.1	44.5

MOTILITÄT
NACH 60 MIN (%)

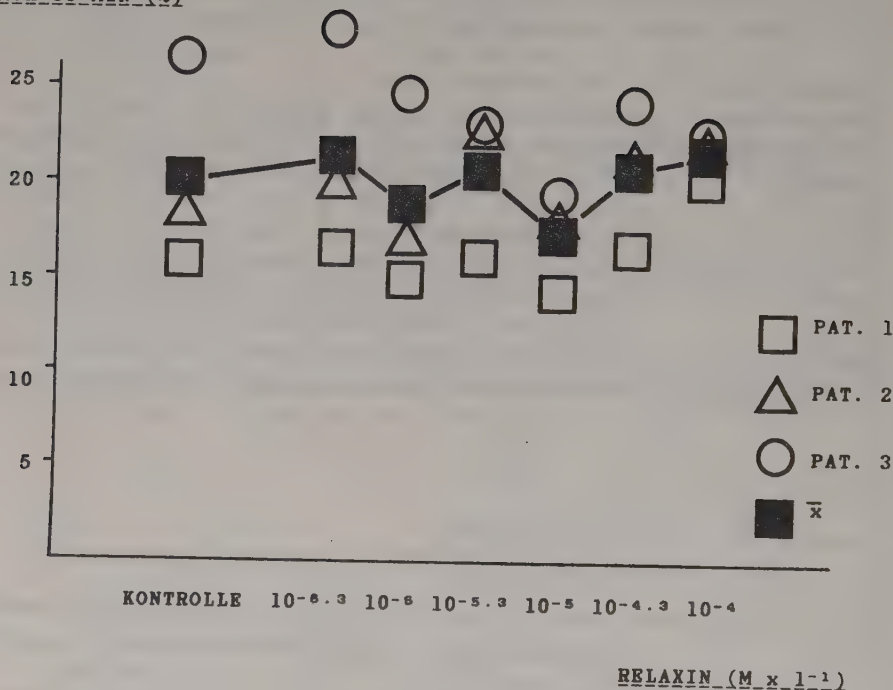
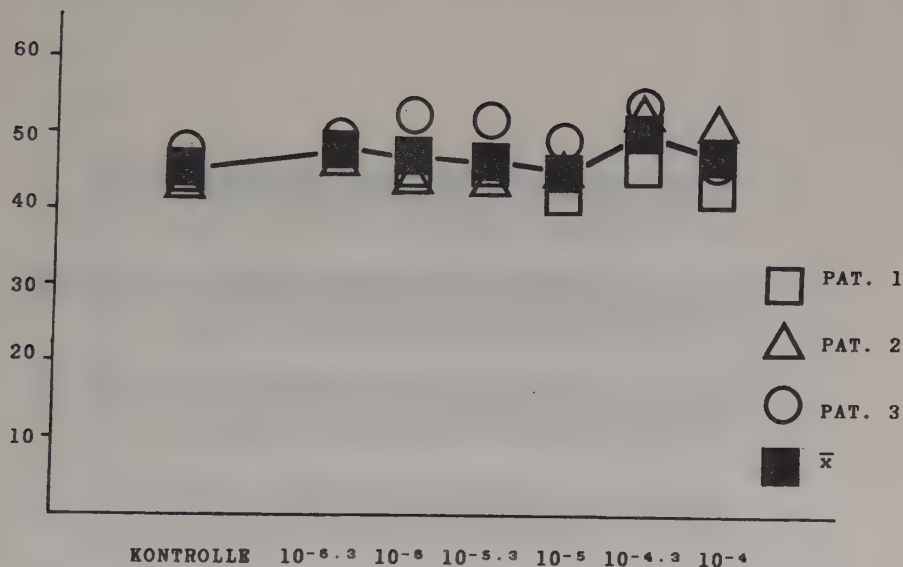


Diagramm 9a: Einfluß von Relaxin
auf die Motilität menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

GESCHWINDIGKEIT
NACH 60 MIN (um/s)



RELAXIN (M x l⁻¹)

Diagramm 9b: Einfluß von Relaxin
auf die Geschwindigkeit menschlicher Spermatozoen
(60-Minuten-Werte)

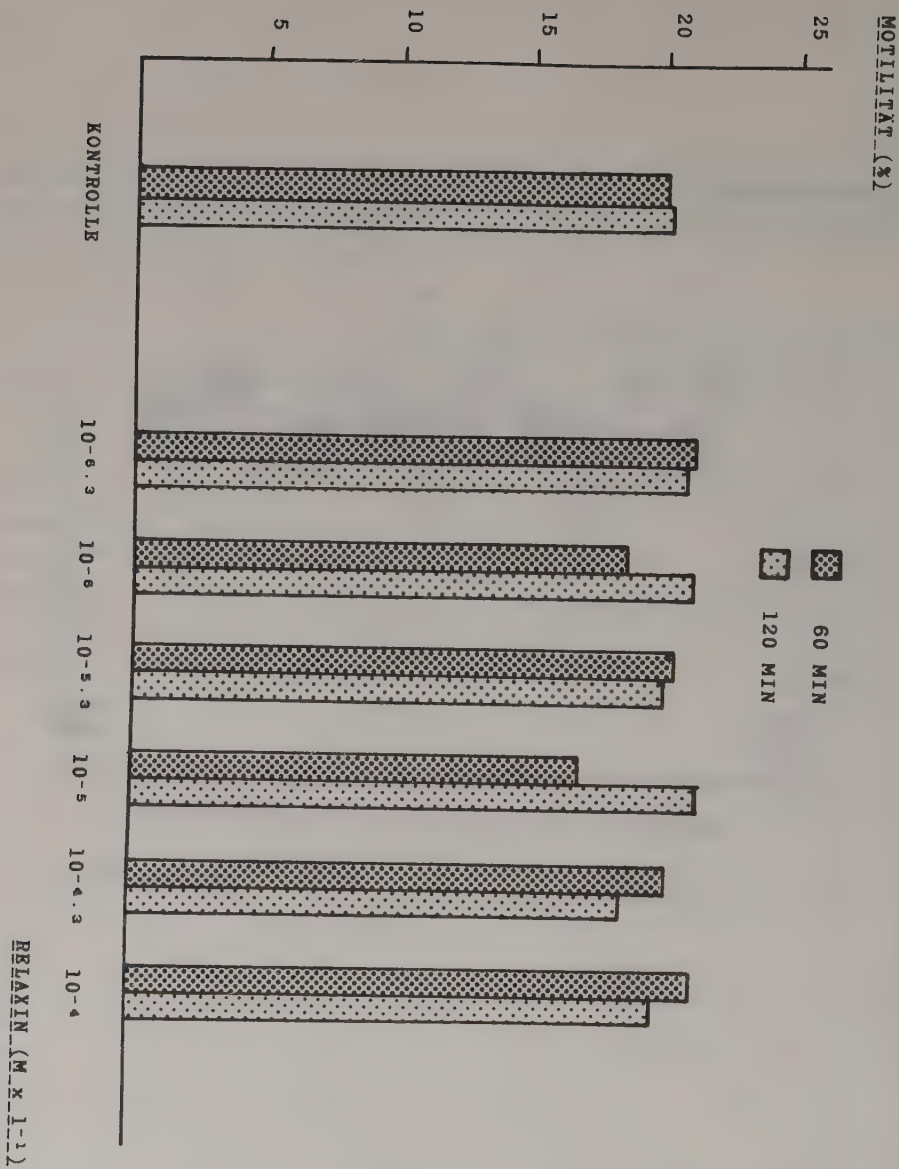


Diagramm 9c: Einfluß von Relaxin auf die Motilität
(Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

GESCHWINDIGKEIT (µm/s)

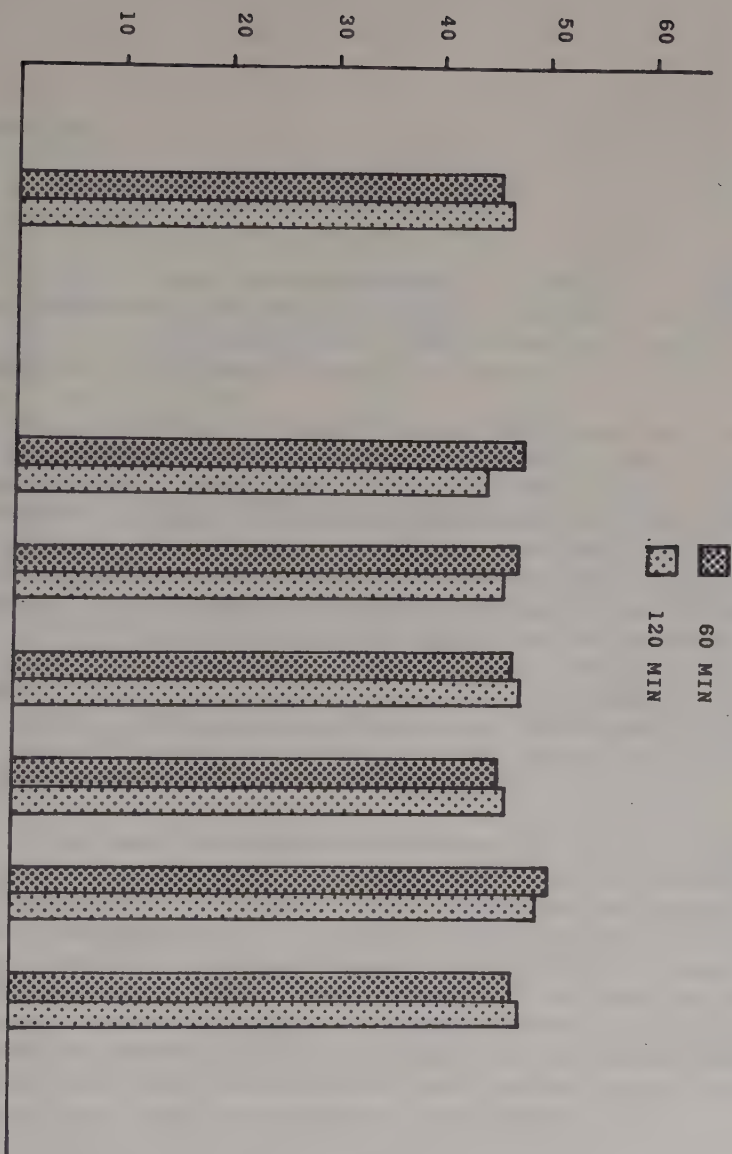


Diagramm 9d: Einfluß von Relaxin auf die Geschwindigkeit
(Vergleich der 60-und 120-Minuten-Werte)

No.	Name	Age
1	John Smith	25
2	James Brown	30
3	William Jones	28
4	Robert Taylor	35
5	Thomas White	22
6	Charles Black	32
7	David Green	27
8	Richard Hill	38
9	Henry Lee	24
10	George King	33
11	Edward Clark	29
12	Thomas Evans	31
13	John Wilson	26
14	Robert Lewis	34
15	William Walker	23
16	Charles Hall	36
17	David Young	21
18	Richard King	37
19	Henry Lee	25
20	George King	32
21	Edward Clark	28
22	Thomas Evans	30
23	John Wilson	27
24	Robert Lewis	35
25	William Walker	24
26	Charles Hall	33
27	David Young	22
28	Richard King	39
29	Henry Lee	26
30	George King	34
31	Edward Clark	29
32	Thomas Evans	31
33	John Wilson	27
34	Robert Lewis	36
35	William Walker	25
36	Charles Hall	37
37	David Young	23
38	Richard King	40
39	Henry Lee	27
40	George King	35
41	Edward Clark	30
42	Thomas Evans	32
43	John Wilson	28
44	Robert Lewis	38
45	William Walker	26
46	Charles Hall	39
47	David Young	24
48	Richard King	41
49	Henry Lee	28
50	George King	36
51	Edward Clark	31
52	Thomas Evans	33
53	John Wilson	29
54	Robert Lewis	39
55	William Walker	27
56	Charles Hall	40
57	David Young	25
58	Richard King	42
59	Henry Lee	29
60	George King	37
61	Edward Clark	32
62	Thomas Evans	34
63	John Wilson	30
64	Robert Lewis	40
65	William Walker	28
66	Charles Hall	41
67	David Young	26
68	Richard King	43
69	Henry Lee	30
70	George King	38
71	Edward Clark	33
72	Thomas Evans	35
73	John Wilson	31
74	Robert Lewis	41
75	William Walker	29
76	Charles Hall	42
77	David Young	27
78	Richard King	44
79	Henry Lee	31
80	George King	39
81	Edward Clark	34
82	Thomas Evans	36
83	John Wilson	32
84	Robert Lewis	42
85	William Walker	30
86	Charles Hall	43
87	David Young	28
88	Richard King	45
89	Henry Lee	32
90	George King	40
91	Edward Clark	35
92	Thomas Evans	37
93	John Wilson	33
94	Robert Lewis	43
95	William Walker	31
96	Charles Hall	44
97	David Young	29
98	Richard King	46
99	Henry Lee	33
100	George King	41

5. DISKUSSION

5.1. ALLGEMEINES

Unsere Messungen der Spermatozoen-Motilität wurden vor allem deshalb durchgeführt, um neue Erkenntnisse über die Regulation der Motilität, insbesondere durch Komponenten des Kallikrein-Kinin- und Renin-Angiotensin-Systems, zu gewinnen.

In die Untersuchungen wurden auch Pharmaka und Hormone mit einbezogen und Überlegungen über den Einfluß analog wirkender Substanzen angestellt; dies erfolgte zum einen, um die Auswirkungen solcher häufig verwendeten chemischen Substanzen auf die Spermatozoen-Motilität abzuschätzen, zum anderen aber auch, um darüber Erkenntnisse zu gewinnen, wie - d.h. über welche molekularen Mechanismen - in den Geweben von Organen des männlichen Genitaltraktes eine reversible Hemmung der männlichen Fertilität prinzipiell möglich ist. Dabei ist die Untersuchung der Frage vorrangig, wie die Spermatozoen-Motilität gehemmt werden kann. Denn die Messung des physiologischen Parameters "Motilität" läßt in vielen Fällen sichere Rückschlüsse, beispielsweise auf die Einwirkung von Schadstoffen, auf Stoffwechselwege zu.

Der Wert und damit die Aussagekraft unserer in vitro durchgeführten Motilitätsmessungen hängt jedoch in erster Linie von der Güte der Meßmethode ab. Bei der Motilitätsmessung von Spermatozoen ist die Entwicklung in den letzten Jahren beachtlich vorangekommen. Denn noch vor nicht allzulanger Zeit benutzte man im andrologischen Labor fast ausschließlich die Schätzung der Zahl beweglicher Spermatozoen eines Nativpräparates im Mikroskop zur routinemäßigen Erfassung der Prozentzahlen beweglicher Spermatozoen eines Ejakulates. Andere schon länger bekannte quantitative Methoden hatten bislang keine praktische Bedeutung.

Heute kennt man noch eine Reihe weiterer neuentwickelter Meßmethoden, die allerdings meist einen beachtlichen technischen Aufwand erfordern, der ihre Anwendung begrenzt. Ein erster Schritt hin zu einer exakten Erfassung der Motilität war insbesondere die

von Makler eingeführte, relativ preiswerte Technik (83), die korrekte Werte liefert, jedoch sehr zeitaufwendig ist und deshalb im Routinelabor praktisch nicht angewendet wird.

Einen verringerten Arbeitsaufwand bei höheren Investitionskosten erbrachte dann eine von der Firma Brunner, München, entwickelte und "Biologische Zellanalyse" genannte Methode mittels der computergestützten Bildanalyse, bei der die Motilität einer Spermatozoen-Population mit Hilfe einer Videokamera aufgezeichnet und mittels eines Computers die Zahl der beweglichen Spermatozoen zuverlässig erfaßt wird.

Außerdem gibt es noch eine auf "Laser-Doppler-Spektroskopie" basierende Technik zur Erfassung der Motilität, bei der das durch sich bewegende Spermatozoen gestreute Laserlicht nach dem Prinzip von Doppler analysiert wird (148). Auch bei dieser Methode sind die Investitionskosten sehr hoch.

5.2. HORMONE UND MÄNNLICHE FERTILITÄT

Da das luteinisierende Hormon (LH) und das follikelstimulierende Hormon (FSH) in hohen Konzentrationen im menschlichen Seminalplasma nachgewiesen werden konnten (132), lag es nahe, auch ihren Einfluß auf die Spermatozoen-Motilität genauer zu untersuchen. FSH führte zwar zu keinem signifikanten Effekt, dafür konnte bei LH bereits mehrfach eine deutliche Stimulation der Spermatozoen-Motilität aufgezeigt werden (88, 90).

Die Wichtigkeit einer objektiven Meßmethode für die Erfassung der Spermatozoen-Motilität wird bei einem Blick in die entsprechende Literatur deutlich. Denn es gibt große Unterschiede in den Angaben der Autoren über den Einfluß von Hormonen, speziell von Peptidhormonen, auf die Spermatozoen-Motilität. Auch wir können beispielsweise einen Einfluß des Peptidhormons Relaxin, das mit dem Peptidhormon Insulin in seiner Tertiärstruktur identisch ist und in hoher Konzentration im Seminalplasma vorkommt, auf die Spermatozoen-Motilität nicht finden, obwohl ein entsprechender stimulierender Effekt publiziert worden ist (31).

Eine Erklärung für diese unterschiedlichen Ergebnisse ist wahrscheinlich, daß bisher bei allen Untersuchungen nur heterologes porcines Relaxin verwendet werden konnte, das, wie man experimentell belegen kann, nur in ganz geringem Ausmaß mit dem humanen Relaxin kreuzreagiert. Deshalb sind die mit porcinem Relaxin erzielten Ergebnisse wegen der großen Schwankungsbreite der Resultate nur von geringer Aussagekraft.

Es steht zur Diskussion, ob unter dem von Selye geprägten Begriff "Stress", unter dem jede unspezifische Belastung des Organismus verstanden wird (136), auch ein Teil der Pathomechanismen zu erklären ist, die zu männlicher Infertilität führen.

Sogenannte "Stressfaktoren" führen, wie ebenfalls von Selye gezeigt wurde, zu einer Anpassungsreaktion des Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems. Über entsprechende Anpassungsreaktionen des Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Systems liegen, zumindest bei männlicher Infertilität, bedeutend weniger Angaben vor. Dabei wären solche, vor allem histologische, Untersuchungen in analoger Weise beim Mann leicht durchzuführen. Zu denken ist dabei in erster Linie daran, daß die durch erhöhte ACTH-Spiegel bewirkte Lipoid-Entspeicherung in den Nebennierenrinden-Zellen exakt zu erfassen ist. Solche völligen Lipoid-Entspeicherungen können in der Nebennierenrinde bei Infektionskrankheiten aber auch bei schweren Verbrennungen beobachtet werden.

Für die Andrologie ist vor allem die Frage bedeutsam, inwieweit mit morphologischen und physiologischen Methoden - wozu auch die molekularbiologischen und biochemischen Methoden zu zählen wären - Einblicke in die Funktion daran beteiligter Regelkreise gewonnen werden können und wie sich Störungen an den hormonbildenden Zellen und Geweben auf die männliche Fertilität auswirken.

Bei morphologischer Betrachtungsweise ist von Bedeutung, daß es im wesentlichen zwei unterschiedliche Zelltypen sind, welche die Hormone bilden und anschließend sezernieren.

Der eine Zelltyp bildet Peptidhormone; dabei werden die Zellprodukte in Form von Granula gespeichert. Der zweite Zelltyp bildet

Steroidhormone. Die Zellen speichern im Zytoplasma Lipotide, Cholesterin und/oder Cholesterinester. Die Lipotide sind lediglich die Vorprodukte für die bei Bedarf stattfindende Synthese der Hormone. Eine Speicherung aktiver Hormone findet nicht statt. Akute Störungen können deshalb beim ersten Zelltyp vor allem beim Sekretionsmechanismus und bei der Regulation, beim zweiten Zelltyp bei der Synthese, der Sekretion und der Regulation auftreten.

Für die bei Gewebshormonen ebenfalls denkbaren Pathomechanismen gelten wahrscheinlich völlig andere Regeln, die weitgehend unbekannt sind. Es gibt jedoch erste Beispiele, welche die Komplexität der Mechanismen erahnen lassen. So hemmt, wie gezeigt werden konnte, das Pflanzenprodukt Gossypol die männliche Fertilität (78, 98, 110).

Wir können darstellen, daß die Motilität der Spermatozoen, die eine wesentliche Voraussetzung für die männliche Fertilität beinhaltet, durch diese Verbindung gehemmt wird. Darüber hinaus ist jedoch bekannt, daß auch die Aktivität einer ganzen Reihe von Enzymen durch Gossypol gehemmt wird (149), darunter auch die Aktivität des ACE (72).

Ausgehend davon kann man nun eine - noch weitgehend unbewiesene - Kausalkette knüpfen, wie durch die ACE-Hemmung auch die Synthese von Gewebshormonen - konkret der Prostaglandine - gehemmt werden könnte. Auch die Hemmung der Synthese der - auch als Gewebshormone zu bezeichnenden - Peptide Angiotensin II und III fällt darunter.

Bei allen Überlegungen ist zu bedenken, daß sicher nur ein Teil der die männliche Fertilität schädigenden Effekte, die endokrinologisch bedingt sein können, durch eine Messung der Spermatozoen-Motilität überhaupt erfaßt werden kann. Denn sicherlich nehmen psychogene Faktoren eine wichtige Stellung als Ursache der Infertilität ein, die wahrscheinlich in der größeren Zahl der Fälle bei Motilitätsmessungen überhaupt nicht berücksichtigt werden können.

5.3. PSYCHOGENE FAKTOREN ALS URSACHE FÜR DIE STÖRUNG DER MÄNNLICHEN FERTILITÄT

Psychische Faktoren haben ohne Zweifel Auswirkungen auf die Fertilität des Mannes. Vor allem ist eine negative Einwirkung von Stressfaktoren als sicher anzunehmen, obwohl umfassende Untersuchungen über deren Einfluß bisher kaum durchgeführt wurden.

Parameter für Subfertilität im Spermiogramm, vor allem auch eine reduzierte Spermatozoen-Motilität, traten bei Untersuchungen von Stauber (147) signifikant häufiger bei solchen Patienten auf, die sich beruflichem oder familiärem Streß ausgesetzt fühlten. Auffällig war außerdem die Abhängigkeit einzelner Sexualstörungen von der Schichtzugehörigkeit der untersuchten Patienten: während in der oberen Mittelschicht sexuelle Störungen (Libido, Orgasmusfähigkeit, Erektion, Ejakulation) gehäuft auftraten, fiel für die Unterschicht der relativ höhere Anteil des Nikotin- und Alkoholkonsums auf, durch den wiederum die Spermaparameter deutlich schlechter werden (147).

Entsprechende Untersuchungen wurden auch an Tieren durchgeführt. Aus den Ergebnissen dieser Tierexperimente konnte u.a. abgelesen werden, daß sich bei zunehmender Zahl von Lebewesen einer Spezies pro Flächeneinheit neue Formen des Zusammenlebens, d.h. neue Organisationsstrukturen, ausbilden. Unter dafür geeigneten Streßbedingungen können aus sog. "Nicht-Systemen" ständig aufs neue geordnete "Systeme" entstehen. Dadurch kann es zur Ausbildung von vernetzten Systemen kommen (157).

Analoge Bedingungen gelten prinzipiell auch für menschliche Populationen und für alle von Menschen geschaffenen künstlichen Systeme, wie sie beispielsweise am Arbeitsplatz vorliegen können. In solchen Systemen hat die zunehmende Verdichtung und ihre Rückwirkung auf die menschliche Psyche, eine entscheidende Bedeutung. Bedingt durch deren Wachstum muß auch beim Menschen - wie bei allen anderen biologischen Systemen - entweder der Übergang zu einer höheren (=höherwertigen) Ordnung (=Organisationsform) vollzogen werden, oder aber das System bricht letztendlich zusammen.

Höhere Populationsdichten führen zu höheren Organisationsformen, die bei Teilen des Systems neuartige Spezialisierungen entstehen lassen. Dies geschieht bei Einzellern unter völliger Veränderung des Verhaltens und unter Verlust ihrer bisherigen Autonomie, bewirkt aber eine Aufgabenteilung, die zur Bildung von solitär-autonomen Teilsystemen führt. Dies konnte man beispielsweise bei einem gut charakterisierten Modell auf niedrigem phylogenetischen Niveau, den zellulären Schleimpilzen (Acrasiales), erkennen (131).

Diese Art der Anpassung erfolgt im Prinzip auch bei höher entwickelten Lebewesen. Denn falls unter normalen Bedingungen in großem Abstand voneinander lebende Einzelindividuen durch äußeren Zwang zusammenrücken, müssen plötzlich bisher nicht benötigte Kommunikationsmechanismen erlernt werden. Dies konnte man u.a. bei bestimmten Vogelarten beobachten, die unter den zuvor geschilderten Zwängen neue Laute zur Kommunikation verwenden, um ihr Revier gegen das benachbarter Artgenossen abzugrenzen (122). Bei noch höheren Populationsdichten entstehen Kooperationen mit entsprechenden Sozialordnungen und Gemeinsamkeiten bei der Biotopgestaltung. Es wird eine kontinuierliche, von Dichteschwelle zu Dichteschwelle verlaufende, Entwicklung erreicht, die jedoch nicht konfliktfrei verläuft. Bei Primaten kann, wenn sich bisher isolierte Lebensräume überschneiden, ein als "Dichtestreß" bezeichnetes Phänomen entstehen, das entweder zu Krankheit, Sterilität und/oder Aggressivität führt.

Ein negativer Dichtestreß führt zumindest zu einer geringeren Dichte der Population, im Extremfall sogar zu ihrer Vernichtung. Es gibt dabei eine sog. "Grenzdichte", auch als "kritischer Raum" bezeichnet, wo der Dichtestreß unter Vernichtung von Einzelindividuen - d.h. durch eine Verringerung der Populationsdichte - arterhaltend wirken kann (122).

Solche Systemregulationen laufen insbesondere bei Primaten über psychosomatische Steuerungsmechanismen. Bei männlichen Tupajas (Spitzhörnchen; Tupaiidae) bewirkt Streß - zum Beispiel hervorgerufen durch den Anblick eines überlegenen Männchens - eine rasch einsetzende Impotenz. In den Tubuli seminiferi, die beim normalen

Tier reichlich Samenzellen enthalten, sind unter diesen Streßbedingungen keine Spermatozoen nachzuweisen. Es entsteht eine zunächst reversible Infertilität (56).

Diese Mechanismen sind im Prinzip auch beim Menschen denkbar; entsprechende Untersuchungsbefunde liegen jedoch nicht vor. Nicht zuletzt aus ethischen Gründen wird es auch in Zukunft schwierig sein, psychogene Faktoren als Ursache von Fertilitätsstörungen zu quantifizieren.

5.4. UMWELTFAKTOREN UND MÄNNLICHE FERTILITÄT

Wegen des weitgehenden Fehlens experimenteller und klinischer Befunde ist der Einfluß von Umweltschadstoffen auf die männliche Fertilität schwer einzuschätzen. Gleichwohl erscheint es gerechtfertigt, eine Beeinflussung der Zeugungsfähigkeit durch in die Umwelt gelangte Schadstoffe oder auch durch in der Natur vorkommende Substanzen zu bejahen.

In der Bundesrepublik liegen bisher keine repräsentativen Zahlen zur Frage der Beeinflussung der Fertilität durch Umweltnoxen vor (129). Berichte aus den USA und anderen Industrieländern melden zwar einen Rückgang der Spermatozoenzahl bei fertilen Männern in den letzten Jahrzehnten (62, 102). Diese Verschlechterung der Spermaqualität könnte aber außer auf Umweltschadstoffe auch auf Veränderungen des Lebensstils, einen eingeschränkten Gesundheitszustand der Bevölkerung oder geändertes individuelles Verhalten zurückgeführt werden, beispielsweise vermehrten Zigarettenkonsum, bedenkenlose Arzneimittelleinnahme oder Streß in Beruf und Freizeit.

Betrachtet man die Umweltfaktoren, so sind vor allem berufsbedingte Noxen, wie sie zum Beispiel bei Arbeitern in der chemischen Industrie oder in der Landwirtschaft gegeben sind, für Fertilitätsstörungen in Betracht zu ziehen. Relevant sind hier vor allem Schwermetalle (Kadmium, Blei, Quecksilber), Pestizide und besonders halogenierte Kohlenwasserstoffverbindungen (DDT, Dioxin u.a.), die zum Beispiel als Holzschutzmittel Verwendung finden. Hinzu kommen im Haushalt verwendete Chemikalien und möglicherweise auch die Biozide, die sich über die Nahrungskette anreichern (24, 172, 173).

Daneben verdienen eine Reihe von Pharmaka wegen ihrer fertilitätshemmenden Eigenschaft Beachtung, die praktisch alle Phasen der Spermatozoenentwicklung beeinträchtigen können (38). Die antifertile Wirkung solcher Pharmaka wurde oft als Nebenwirkung übersehen, weil der Patientenkreis, der diese Medikamente erhielt, sich häufig schon außerhalb der üblichen Reproduktionsphase befand.

Die zahlreichen exogenen Faktoren, die im Verdacht stehen, zu vorübergehender oder gar bleibender Infertilität des Mannes zu führen, sind in Abb. 13 zusammengefaßt.

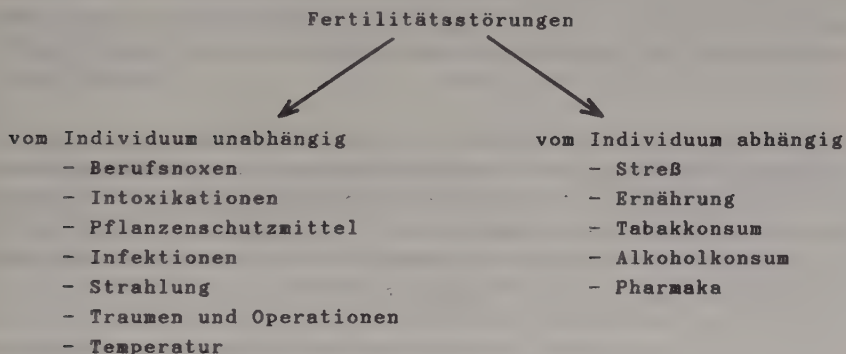


Abb. 13: Mögliche Ursachen von Fertilitätsstörungen durch exogene Faktoren (modifiziert nach (86))

Eine erhebliche Schwierigkeit bei der Beurteilung der schädigenden Potenz - zum Beispiel von Chemikalien - besteht darin, den toxischen Effekt solcher Noxen auf das Samenepithel zu bestimmen. Besonders schwierig ist der Nachweis zu führen, wenn solche schädigenden Substanzen die Motilität der Spermatozoen nicht beeinflussen.

Wegen der noch zu geringen Zahl experimenteller Untersuchungen und deren ungenügender statistischer Absicherung findet man bei verschiedenen Autoren stark voneinander abweichende Angaben. Dies gilt zum Beispiel für die Wirkung von Tetrachlordibenzo-p-Dioxin (Seveso-Gift) (154). Auf Grund der toxikologischen Bedeutung solcher Verbindungen und der Beobachtung ihrer schädigenden Wirkung

durch die sensibilisierte Öffentlichkeit wurden und werden zahlreiche Tierversuche auf diesem Gebiet durchgeführt. Von ihnen erhofft man sich u.a. Hinweise bezüglich einer schädigenden Wirkung auf das männliche Samenepithel.

Der Aussagewert vieler solcher Tierexperimente wird jedoch dadurch beeinträchtigt, daß durch die Verabreichung zu hoher Konzentrationen die applizierten Substanzen nicht den aktuellen Umweltkonzentrationen entsprachen.

Ein typisches Beispiel hierfür sind die Experimente mit dem Schwermetall Kadmium, das bei tierexperimentellen Untersuchungen fast ausschließlich subkutan oder intraperitoneal in irrelevant hohen Dosen verabreicht wurde (50). Vor allem bei Ratten wurden als Folge derart hoher Dosen ausgedehnte Testisschäden gefunden, die zum Untergang des Samenepithels führten.

Die durch solche akut toxischen Wirkungen erzielten Ergebnisse haben die enorm wichtige Beurteilung der chronischen Toxizität in Langzeitversuchen meistens stark beeinträchtigt oder gar unmöglich gemacht. Das ändert nichts daran, daß viele Befunde auch in Zukunft ausschließlich durch Tierversuche erstellt oder bestätigt werden können.

Es gibt aber auch bereits Untersuchungen, die bei Tier und Mensch zulässig waren und zu einer unterschiedlichen Bewertung von Noxen führten: Ein gutes Beispiel hierfür ist der Vergleich der Strahlenempfindlichkeit des Samenepithels von Mensch und Maus (117).

Es ist bekannt, daß sich die unterschiedlichen Geschlechtszelltypen in den verschiedenen Entwicklungsstadien bei beiden sehr ähnlich verhalten. So ist bei einer Strahlendosis von 600 rad bei beiden Spezies eine Regeneration des Samenepithels möglich. Beide unterscheiden sich jedoch in der Art der Regeneration der bestrahlten Stammzellen: bei der Maus werden zuerst alle irreversibel geschädigten Zellen ersetzt, bevor wieder differenzierungsfähige Geschlechtszellen gebildet werden. Beim Menschen erfolgt die Bildung neuer Geschlechtszellen bereits vor der völligen Eliminierung der letal geschädigten Zellen. Auf diese Weise wird der

Ersatz der nicht mehr funktionsfähigen Stammzellen verzögert und die Regeneration benötigt eine längere Zeit.

Bei allen Untersuchungen von Schadstoffwirkungen muß bedacht werden, daß sehr viele und wahrscheinlich ubiquitär verbreitete Noxen im Verdacht stehen, das männliche Reproduktionssystem negativ zu beeinflussen. Ein sicherer Nachweis einer tatsächlich schädigenden Wirkung konnte aber in vielen Fällen noch nicht geführt werden.

Deshalb ist zu fordern, daß die Identifizierung einer Noxe als Schadfaktor für das menschliche Samenepithel künftig Aufgabe gezielter epidemiologischer Untersuchungen sein muß; denn bei der Erhebung entsprechender Untersuchungsbefunde nach bisheriger Praxis mußte auf die routinemäßigen, aber nur vereinzelt möglichen Kontrollen bei kooperativen Patienten zurückgegriffen werden. Dies kann aber nicht ausreichende Grundlage zur Erlangung allgemein gültiger Erkenntnisse sein.

5.5. DISKUSSION DER MESSERGEBNISSE UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

5.5.1. DER EINFLUSS VON ACE-HEMMERN

Die Ergebnisse von Liu (78) konnten von uns bestätigt werden, wonach Gossypol-Racemat und (+)-Gossypol, die sich beide als Hemmer des Angiotensin Converting Enzyme erwiesen, die Motilität menschlicher Spermatozoen hemmen.

Die Wirkung von Gossypol auf die männliche Fertilität ist ein frühes Beispiel für fertilitätsschädigende Noxen, die mit der Nahrung aufgenommen werden. Die Substanz ist ein Bestandteil des Baumwollsamensöls, das in früheren Zeiten in Ländern wie China ohne jede Vorbehandlung für Speisezwecke benutzt wurde. Dadurch konnte der Effekt von Gossypol ausgiebig an einer großen Zahl ungewollter Probanden beobachtet werden.

Heute ist die antifertile Wirkung von Gossypol durch umfangreiche klinische Studien gesichert (78, 98, 110). Die Verbindung ist tatsächlich in der Lage, die männliche Fertilität reversibel zu hemmen. Für eine gezielte antikonzeptionelle Therapie beim Mann wird Gossypol jedoch nicht verwendet, da inzwischen beachtliche Nebenwirkungen - zum Beispiel Hypokaliämien - bekannt wurden. Die hypokaliämische Wirkung ist wahrscheinlich durch die Hemmung des Enzyms ACE bedingt und läuft über eine Störung der Induktion der Aldosteron-Synthese in der Zona glomerulosa der Nebennierenrinde.

Wir konnten die Ergebnisse anderer Untersucher bestätigen, wonach Gossypol die Motilität menschlicher Spermatozoen in vitro hemmt (68, 107, 113, 155, 160). Diese Hemmung ist wahrscheinlich irreversibel.

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß die Aktivität einer ganzen Reihe von Enzymen durch Gossypol inhibiert werden kann. Dazu gehören vor allem die ATPasen, das angeblich nur im männlichen Genitaltrakt vorkommende Isoenzym der LDH mit der Bezeichnung LDH X (E.C.1.1.1.27) (149) sowie noch eine Reihe weiterer Enzyme mit vor allem proteolytischer Aktivität.

Neu hingegen war die in unserem Labor erstmals gemachte Entdeckung, daß Gossypol auch das wichtige Regulatorenzym ACE, das im menschlichen Seminalplasma in hoher Aktivität vorkommt, zu hemmen in der Lage ist. Davon ausgehend stellte sich die Frage, ob ACE auch für die Regulation der Spermatozoen-Motilität von Bedeutung ist.

Eine Klärung dieser Frage sollte prinzipiell möglich sein, wenn es gelänge, den Einfluß chemisch unterschiedlicher, jedoch gleichartig wirkender, ACE-Inhibitoren auf die Spermatozoen-Motilität zu bestimmen. Es gibt nun eine ganze Reihe hochspezifischer ACE-Inhibitoren, die zum Teil in der Therapie des renalen Bluthochdrucks Verwendung finden. Auf die Substanzen Captopril (Lopirin^R) und Enalapril (Xanef^R) konnte zurückgegriffen werden.

Als Ergebnis dieser Experimente stellte sich heraus, daß keiner der therapeutisch verwendeten ACE-Hemmer die Spermatozoen-Motilität in vitro hemmen konnte. Im Gegenteil: bei einem der beiden ACE-Hemmer, nämlich Captopril, stellte sich in hohen Konzentrationen sogar ein stimulierender Effekt in Bezug auf die Spermatozoenmotilität heraus (105).

Diesen Effekt könnte man folgendermaßen erklären: Da Kinine die Motilität menschlicher Spermatozoen fördern (123), und da ACE (=Kininase II) die Kinine zu inaktiven Peptiden abbaut, würde deren Motilitäts-begünstigender Einfluß durch ACE abgeschwächt werden. Durch einen Kininase-Hemmer wiederum ließe sich dieser Einfluß des ACE abmildern, woraus im Endeffekt eine Motilitäts-Stimulation resultieren müßte. In unseren Fall ließ sich jedoch der motilitätsfördernde Effekt von Captopril durch Enalapril, den zweiten ACE-Hemmer, in keinem der Experimente aufzeigen, was dieser Interpretation widerspricht.

Der stimulierende Effekt von Captopril könnte aber auch als eine alpha-mimetische Wirkung dieser Verbindung interpretiert werden und bildete den Ausgangspunkt für weiterführende Überlegungen zu molekularen Mechanismen, über deren Hemmung auch eine Hemmung der Spermatozoen-Motilität möglich sein sollte.

Durch die Untersuchung des Einflusses von ACE-Hemmern auf die Motilität der Spermatozoen konnte nachgewiesen werden, daß ACE nicht an entsprechenden regulatorischen Steuerungsmechanismen der Spermatozoen-Motilität beteiligt zu sein scheint. Dieses Ergebnis steht nicht im Widerspruch zu den Befunden in der Literatur über die motilitätssteigernden Effekte von Kininen.

5.5.2. DIE HEMMUNG MEMBRANSTÄNDIGER IONENTRANSPORT-PROZESSE

Um zu klären, ob die motilitätshemmende Wirkung von Gossypol durch eine Blockierung membranständiger Ionentransportprozesse bedingt ist, wurde der Einfluß von gut charakterisierten Hemmern von Membrantransport-Prozessen auf die Spermatozoen-Motilität untersucht.

Die Ergebnisse erbrachten, daß der Acetylcholinrezeptor-Blocker alpha-Bungarotoxin, ein basisches Peptid, das aus dem Gift der Schlange *Bungarus multicinctus* isoliert wurde, die Spermatozoen-Motilität vollständig hemmt. Damit gewinnt die Annahme an Wahrscheinlichkeit, daß Membrantransportprozesse tatsächlich die Möglichkeit bieten, über ihre Inhibition eine Hemmung der Motilität zu erzielen.

Diese Annahme gilt auch für die Erklärung der Hemmwirkung des Psychopharmakons Trifluoperazin, das als spezifischer Antagonist des kalziumbindenden Proteins Calmodulin angesehen wird. In diesem Fall scheint die Hemmung der Motilität durch die Inhibition des membranständigen Kalziumtransports bedingt zu sein.

Ähnliche Effekte sollten sich auch durch andere Pharmaka, die als Kalzium-Antagonisten wirken, erzielen lassen.

Wir glauben, durch unsere Experimente konkrete Hinweise geliefert zu haben, daß durch die Hemmung transmembraner Kationen-Fluxe eine Hemmung der Spermatozoen-Motilität möglich ist. Diese Befunde können beachtliche Konsequenzen haben, da hiermit im Prinzip neue Wege zur antikonzeptiven Regulation der männlichen Fertilität aufgezeigt wurden.

5.5.3. BLOCKIERUNG VON ALPHA-REZEPTOREN

Es wurde schon darauf hingewiesen, daß der in hohen Dosen motilitätssteigernde Effekt des ACE-Hemmers Captopril durch eine alpha-mimetische Nebenwirkung der Verbindung erklärt werden könnte. Deshalb wurden auch Untersuchungen über einen etwaigen Einfluß von alpha-Rezeptorenblockern auf die Spermatozoen-Motilität durchgeführt.

Als Modellsubstanzen wurden die dopaminergen Pharmaka Bromocriptin (Pravidel^R) und Lisurid-Maleinsäure (Dopergin^R) eingesetzt. Diese zeichnen sich, neben ihrer die alpha-Rezeptoren blockierenden Wirkung, durch eine Stimulation von Dopamin-Rezeptoren und eine Hemmung der Prolaktin-Freisetzung aus.

Aus den Ergebnissen dieser Versuche geht hervor, daß Lisurid-Maleinsäure die Spermatozoen-Motilität in vitro zwar deutlich hemmt, während Bromocriptin in keinem der Experimente einen nachweisbaren Effekt hat (106). Diese Unterschiede in der Wirkung zweier Pharmaka mit an sich identischem Wirkungsspektrum sind nicht leicht zu erklären.

Wahrscheinlich sind sie durch die verschiedenartige Molekülstruktur und eine dadurch bedingte unterschiedliche Lipophilie der Verbindungen zu deuten. Auf diese Weise könnte eine die alpha-Rezeptoren blockierende Eigenschaft bei einer Verbindung stärker zur Wirkung kommen.

Die unterschiedlichen Effekte könnten jedoch auch durch eine voneinander abweichende Affinität der beiden Pharmaka zu einem Prolaktin-Rezeptor am Spermatozoon interpretiert werden, dessen Existenz sehr wahrscheinlich ist; denn es gibt Hinweise, wonach das Peptidhormon Prolaktin die Spermatozoen-Motilität stimulieren kann. Eine endgültige Klärung aber wird wohl nur durch weitere Untersuchungen mit analog wirkenden Pharmaka möglich sein.

Zusammenfassend glauben wir feststellen zu können, daß sich für die Hemmung der Spermatozoen-Motilität und damit für die Hemmung der männlichen Fertilität zwei erfolgversprechende Wege auftun: Der eine über eine negative Beeinflussung des Energiestoffwechsels der Spermatozoen und der andere über die Hemmung von Ionen-transportprozessen durch die Spermatozoenmembran.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Spermatogenese, der Spermatozoen-Transport und die Wechselwirkungen des Spermatozoon mit der Eizelle sind wesentliche Bereiche, in denen eine Regulation - im Sinne einer Stimulation ebenso wie im Sinne einer Inhibition - der männlichen Fertilität denkbar ist.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von verschiedenen Pharmaka auf die Motilität menschlicher Spermatozoen, die zum Teil mit Komponenten des Kallikrein-Kinin- und des Renin-Angiotensin-Systems in Wechselwirkung treten können, mit objektiven Methoden wie der "Multiple Exposure Photography" nach Makler und mit einem Mikroprozessor-gesteuerten Bildanalyse-System (Fa. Brunner Medizintechnik, München) untersucht.

Zunächst konnten die Ergebnisse von Liu bestätigt werden, wonach der für kontrazeptive Zwecke eingesetzte Baumwollsaamenextrakt Gossypol-Racemat und (+)-Gossypol die Motilität menschlicher Spermatozoen hemmen.

Da Gossypol auch ein potenter Inhibitor des im Seminalplasma vorhandenen Angiotensin Converting Enzyme (ACE) ist, andererseits aber das an der Regulation der Spermatozoen-Motilität beteiligte Enzym Gewebs-Kallikrein nicht hemmt, lag es nahe, einen Einfluß von ACE auf die Spermatozoen-Motilität zu vermuten.

Zur Klärung dieser Annahme wurde der Einfluß spezifischer und teilweise therapeutisch genutzter ACE-Hemmer (Captopril, Enalapril) auf die Spermatozoen-Motilität untersucht.

Bei diesen Substanzen zeigte sich jedoch keinerlei hemmende Wirkung auf die Motilität - im Gegenteil: bei Captopril ergab sich bei hoher Dosierung sogar ein leicht stimulierender Effekt. Nach den erhaltenen Ergebnissen ist daher eine Beteiligung des Angiotensin Converting Enzyme an der Regulation der Spermatozoen-Motilität eher unwahrscheinlich.

Um zu klären, ob die motilitätshemmende Wirkung von Gossypol durch die Blockierung von transmembranären Ionentransporten zustande kommt, wurde der Einfluß von Ionentransporthemmern auf die Spermatozoen-Motilität gemessen.

Dabei wurde festgestellt, daß der Acetylcholin-Rezeptorblocker alpha-Bungarotoxin und Trifluoperazin, ein spezifischer Calmodulin-Antagonist, die Motilität der Spermatozoen in vitro hemmen.

Der in hohen Dosen motilitätssteigernde Effekt von Captopril könnte als alpha-mimetische Nebenwirkung der Substanz erklärt werden. Deshalb wurde der Einfluß von alpha-Rezeptorblockern auf die Motilität mit Bromocriptin und Lisurid-Maleinsäure als Modellsubstanzen untersucht.

Es konnte gezeigt werden, daß lediglich Lisurid-Maleinsäure hemmend auf die Spermatozoen-Motilität einwirkt, wohingegen Bromocriptin keinen Effekt erzielte.

Unsere Untersuchungen belegen, daß eine temporäre und reversible Hemmung membrangebundener Ionentransportprozesse ein gangbarer Weg zur Hemmung der Spermatozoen-Motilität und damit zur Regulation der männlichen Fertilität sein könnte.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) ACOTT, T.S., KATZ, D.F. and HOSKINS, D.D. (1983)
Movement characteristics of bovine epididymal spermatozoa: effects of forward motility protein and epididymal maturation
Biol. Reprod. 29: 389-399
- 2) AITKEN, R.J. (1983)
Clinical assessment of sperm function
J. Obstet. Gynaec. 3 (Suppl. 2): 48-52
- 3) ALBERTS, C., VAN DER SCHOOT, J.G. and VAN DAATSELAAR, J.J. (1983)
5 UB 6 sub 7 Ga scintigraphy, serum lysozyme and angiotensin converting enzyme in pulmonary sarcoidosis
Eur. J. Respir. Dis. 64: 38-46
- 4) AMANN, R.P. (1981)
A critical review of methods for evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics
J. Androl. 2: 37-41
- 5) BAKHLE, Y.S. (1968)
Conversion of angiotensin I to angiotensin II by cellfree extracts of dog lung
Nature 220: 919-921
- 6) BEDFORD, J.M. (1975)
Maturation, transport and fate of spermatozoa in the epididymis
In: Handbook of Physiology, Edited by D.W. Hamilton and R.O. Greep, Sect. 7: Endocrinology, Vol. 5: Male Reproductive System. Washington DC, American Physiological Society, pp. 303-317
- 7) BLANDAU, R.J. and RUMERY, R.E. (1964)
The relationship of swimming movements of epididymal spermatozoa to their fertilizing capacity
Fertil. Steril. 15: 571-579
- 8) BLANDAU, R.J. (1969)
Gamete transport-comparative aspects
In: Hafez, E.S.E. and Blandau, R.J. (eds.): The mammalian oviduct pp. 129-162. Univ. of Chicago Press, Chicago

- 9) BOSTOFTE, E., SERUP, J. and REBBE, H. (1981)
Hammen Semen Quality Classification and Pregnancies obtained during a twenty-year follow-up period
Fertil. Steril. 36: 84-87

- 10) BRADLEY, M.P. and FORRESTER, I.T. (1982)
Human and Ram Seminal Plasma Both Contain a Calcium-Dependent Regulator-Protein: Calsemin
J. Androl. 3: 289-296

- 11) BROKAW, C.J. and NAGAYAMA, S.M. (1985)
Modulation of the asymmetry of sea urchin sperm flagellar bending by calmodulin
J. of Cell. Biol. 100: 1875-1883

- 12) BURGARDT, A., BAUER, H., LIPPERT, T.H. and VOELTER, W. (1983)
Purification and biological activity of relaxin from human seminal fluid
In: Bigazzi, M., Greenwood, F.C., Gasparri, F. (eds.): Biology of relaxin and its role in the human. Excerpta Medica, Amsterdam-Oxford-Princeton, pp. 399-401

- 13) CALDWELL, P.R., SEEGAL, B.C., HSU, K.C., DAS, M. and SOFFER, R.L. (1976)
Angiotensin-converting-enzyme: vascular endothelial localization
Science 191 (4231): 1050-1051

- 14) CAMERON, S.M., WALLER, D.P. and ZANEVELD, L.J.D. (1982)
Vaginal spermicidal activity of gossypol in the Macaca arctoides
Fertil. Steril. 37: 273-274

- 15) CARR, B.R. and WILSON, J.D. (1983)
Disorders of the ovary and female reproductive tract.
In: Harrison's Principles of Internal Medicine (Petersdorf, R.G., Adams, R.D., Braunwald, E., Isselbacher, K.J., Martin, J.B., Wilson, J.D., eds.), Tenth Edition, p. 703, McGraw-Hill International Book Company

- 16) CHANG, C.C. (1979)
The Action of Snake Venoms on Nerve and Muscle
In: Lee, Ch.-Y. (ed.): Snake Venoms. Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. 52
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York

- 17) CHANG, M.C., ZHI, P.G. and SAKSENA, S.K. (1980)
Effects of gossypol on the fertility of male rats, hamsters and rabbits
Contraception 21: 461-469
- 18) COOPER, T.G. (1984)
The onset and maintenance of hyperactivated motility of spermatozoa from the mouse
Gamete Res. 9: 55-74
- 19) COOPER, T.G. (1986)
The Epididymis, Sperm Maturation and Fertilisation
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York-London-Paris-Tokyo
pp. 9-42
- 20) CRAVEN, D.J., WARREN, A.Y. and SYMONDS, E.M. (1981)
Active and inactive renin in human seminalplasma
Archives of Androl. 7: 63-67
- 21) CUMMINGS, J.M. (1982)
Hyperactivated motility patterns of ram spermatozoa recovered from the oviducts of mated ewes
Gamete Res. 6: 53-63
- 22) CUSHMAN, D.W. and CHEUNG, H.S. (1971)
Concentration of angiotensin-converting-enzyme in tissues of the rat
Biochem. Biophys. Acta 250: 261-265
- 23) DENNHARDT, R. and HABERICH, F.J. (1972)
Effects of kallikrein on the absorption of water, electrolytes and hexoses in the intestine of rats
In: Haberland, G.L. and Rohen, J.W. (eds.): Kininogenases-Kallikrein I, Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, pp.81-89
- 24) DIXON, R.L., SHERINS, R.J. and LEE, I.P. (1979)
Assessment of Environmental Factors Affecting Male Fertility
Environmental Health Perspectives 30: 53-68
- 25) DOTT, H.M. and WALTON, A. (1960)
Effects of dilution and washing on ram spermatozoa studied by the flow dialyses technique
J. Reprod. Fert. 1: 350-367

- 26) ELIASSON, R. (1965)
Effect of frequent ejaculations on the composition of human seminal plasma
J. Reprod. Fert. 9: 331-336

- 27) ELIASSON, R. (1971)
Oxygen consumption of human spermatozoa in seminal plasma and Ringer solution
J. Reprod. Fert. 27: 385-389

- 28) ELIASSON, R., JOHNSEN, O. and LINDHOLMER, C. (1974)
Effects of seminal plasma on some functional properties of human spermatozoa
In: Mancini, R.E. and Martini, L. (eds.): Male fertility and sterility, New York, Academic Press, Inc. pp. 107-122

- 29) ELIASSON, R., ARVER, S., JOHNSEN, O., KVIST, U. and LINDHOLMER, C. (1978)
Some effects of seminal plasma on spermatozoa
In: Fabbrini, A. and Steinberger, E. (eds.): Recent Progress in Andrology, Serono Symposium 14, Academic Press, London p. 215

- 30) ERDÖS, E.G. (1970)
Bradykinin, Kallidin und Kallikrein
In: Eichler, O., Farah, A., Herken, H., Welch, A.D. (eds.): Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. XXV, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp. 427-481

- 31) ESSIG, M., SCHOENFELD, C., AMELAR, R., DUBIN, L. and WEISS, G. (1982)
Stimulation of human sperm motility by relaxin
Fertil. Steril. 38: 339-342

- 32) FERREIRA, S.H. and VANE, J.R. (1965)
The disappearance of bradykinin and eledoisin in the circulation and vascular beds of the cat
Br. J. Pharmacol. Chemoth. 30: 417-424

- 33) FINK, E. and SCHILL, W.-B. (1983)
Studies on Tissue Kallikrein in Human Seminalplasma
In: Haberland, G.L., Rohen, J.W., Fritz, H. and Huber, P. (eds.): Kininogenases-Kallikrein, Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, pp. 147-154

- 34) FINK, E., SCHILL, W.-B. and FIEDLER, F. (1985)
Tissue Kallikrein in Human Seminalplasma
Protides of the Biological Fluids 32: 299-303

- 35) FRAY, C.S., HOFFER, A.P. and FAWCETT, D.W. (1972)
A re-examination of motility patterns of rat epididymal spermatozoa
Anat. Rec. 173: 301-308

- 36) FREY, E.K. und KRAUT, H. (1928)
Ein neues Kreislaufhormon und seine Wirkung
Arch. f. exper. Path. u. Pharmacol. 133: 1-56

- 37) FREY, E.K., KRAUT, H., WERLE, E., VOGEL, R., ZICKGRAF, G. und TRAUTSCHOLD, I. (1968)
Das Kallikrein-Kinin-System und seine Inhibitoren
Enke Verlag, Stuttgart

- 38) FRITSCH, P., TRENKWALDER, B. und SCHILL, W.-B. (1985)
Venerologie und Andrologie
Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo: Ss. 151-206

- 39) FUCHS, H. and BELONOSCHKIN, B. (1942)
Biologie der Spermatozoen in menschlichem Hoden und Nebenhoden
Arch. Gynaekol. 174: 357

- 40) GREEN, D. P. L. and PURVES, R. D. (1984)
Mechanical hypothesis of sperm penetration
Biophys. J. 45: 659-662

- 41) GROSS, H. und LANGNER, E. (1965)
Trifluoperazin (Jatroneural[®]) bei der Behandlung schizophrener Psychosen
Wiener Med. Wochenschr. 18/19 (115): 397-400

- 42) HADLEY, M.A., LIN, C.Y. and DYM, M. (1981)
Effects of gossypol on the reproductive system of male rats
J. Androl. 2: 190-194

- 43) HAHN, D.W., RUSTICUS, A., PROBST, A., HOMM, R. and JOHNSON, A.N. (1981)
Antifertility and endocrine activities of gossypol in rodents
Contraception 24: 97-99

- 44) HARA, A., FUKUYAMA, A. and EPSTEIN, W.L. (1981)
Angiotensin-Converting-Enzyme measured in mouse tissue by inhibition of histidyl-leucine peptidase
Biochem. Med. 26: 199-210

- 45) HARRISON, R.A.P. and WHITE, I.G. (1972)
Some methods for washing spermatozoa from bull, boar and ram: a comparison using biochemical and other criteria
J. Reprod. Fert. 29: 271-284

- 46) HARRISON, R.A.P. and WHITE, I.G. (1972)
Glycolytic enzymes in the spermatozoa and cytoplasmic droplets of bull, boar and ram, and their leakage after shock
J. Reprod. Fert. 30: 105-115

- 47) HARVEY, C. (1954):
An experimental study of the penetration of human cervical mucus by spermatozoa in vitro
J. Obstet. Gynaecol. Br. Commonw. 61: 480-490

- 48) HELMER, O.M. (1957)
Differentiation between two forms of angiotensin by means of spirally cut strips of rabbit aorta
Am. J. Physiol. 188: 571-577

- 49) HICKS, J.J., MARTINEZ-MANAUTOU, J., PEDRON, N. and ROSADO, A. (1972)
Metabolic changes in human spermatozoa related to capacitation
Fertil. Steril. 23: 172-179

- 50) HILSCHER, W. (1985)
Umwelt und Fertilität - Ein Beitrag zur Sensibilität der männlichen Keimbahn gegenüber Umwelttoxinen
Z. Hautkrankheiten 60: 1040-1065

- 51) HINRICHSEN, M.J. and BLAQUIER, J.A. (1980)
Evidence supporting the existence of sperm maturation in the human epididymis
J. Reprod. Fert. 60: 291-294

- 52) HINTON, B.T. (1980)
The epididymal microenvironment. A site of attack for a male contraceptive?
Invest. Urol. 18: 1-10

- 53) HOHLBRUGGER, G., SCHWEISFURT, H., KNONSALLA, M. and DAHLHEIM H. (1980)
Experimental Approach to the Physiological Role of Gonadal Angiotensin I Converting Enzyme
Pflüger's Archiv 384: R 28
- 54) HOHLBRUGGER, G. and DAHLHEIM, H. (1981)
Converting Enzyme - A possible regulatory component of male fertility
IIIrd World Congress of Human Reproduction, March 22.-26.1981
ICC Berlin, 321-333 (Abstr.)
- 55) HOHLBRUGGER, G., SCHWEISFURTH, H. and DAHLHEIM, H. (1982)
Angiotensin I converting enzyme in rat testis, epidymidis and vas deferens under different conditions
J. Reprod. Fert. 65: 97-103
- 56) VON HOLST, E. (1969)
Sozialer Stress bei Tupajas
Z. f. vergl. Physiol. 63: 1-14
- 57) HOROWSKI, R. (1982)
Role of monoaminergic mechanisms in the mechanism of action of ergot derivatives used in migraine
In: Rose, F.C. (ed.): Advances in Migraine. Raven Press, New York, p. 187
- 58) HOROWSKI, R. (1983)
Pharmacological effects of lisuride and their potential role in further research
In: Calne, D.B., Horowski, R., McDonald, R.J. and Wuttke, W. (eds.): Lisuride and other Dopamine Agonists: Basic Mechanisms and Endocrine and Neurological Effects.
Raven Press, New York, p. 127
- 59) HOSKINS, D.D., ACOTT, T.S., CRITZCHLOW, L. and VIJAYARAGHAVAN S. (1983)
Studies on the roles of cyclic AMP and calcium in the development of bovine sperm motility
J. Submicroscop. Cytol. 15: 21-27
- 60) IGARASHI, M. (1978)
Reproductive and Gynaecologic Endocrinology
Nanzando Co. Ltd. Tokyo

- 61) INAGAMI, T., TAKAHASHI, N., YOKOSAWA, N. and TOKII, Y. (1979)
Partial purification of prorenin and activation by kallikrein: A possible new link between renin and kallikrein system
Advances in Experimental Medicine and Biology 120 B: 415-428
- 62) JAMES, W.H. (1980)
Secular trends in reported sperm counts
Andrologia 12: 381-388
- 63) JECHT, E.W. and RUSSO, J.J. (1973)
A system for the quantitative analysis of human sperm motility
Andrologia 5: 215-221
- 64) JOHNSEN, O. and ELIASSON, R. (1976)
Follicular fluid and succinate oxidation by human spermatozoa
Andrologia 4: 283-284
- 65) JOHNSEN, O. and ELIASSON, R. (1978)
Adhesion of human spermatozoa to glass surfaces
In: Cortes-Prieto, J. and Semm, K. (eds.): Reproduction Publ Scientifica sobre Reproduction Humana y Animal, Madrid p. 437
- 66) JOHNSEN, O. and ELIASSON, R. (1978)
Destabilization of human sperm membranes by albumin, EDTA and histidine
Int. J. Androl. I: 485-488
- 67) JOHNSON, W. L. and HUNTER, A. G. (1985)
Association of Asthenozoospermia with a Deficiency of a Seminal Glycoprotein
Int. J. Fertil. 30: 57-60
- 68) KALLA, N.R. and VASUDEV, M. (1980)
Studies on the male antifertility agent gossypol acetic acid: In vitro studies on the effect of gossypol acetic acid on human spermatozoa
IRCS Med. Sci.: Biochem. 8: 375-376
- 69) KATZ, D.F. and YANAGIMACHI, R. (1980)
Movement characteristics of hamster spermatozoa within the oviduct
Biol. Reprod. 22: 759-764

- 70) KATZ, D.F. and YANAGIMACHI, R. (1981)
Movement characteristics of hamster and guinea-pig spermatozoa upon attachment to the zona pellucida
Biol. Reprod. 25: 785-791
- 71) KIENITZ, T. und SCHILL, W.-B. (1977)
Orale Kallikrein-Therapie der Asthenozoospermie
Fortschr. der Med. 95: 2102-2105
- 72) KRASSNIGG, F., ENGL, R., TÖPFER-PETERSEN, E., FRIESS, R. and SCHILL, W.-B. (1985)
Characterization of angiotensin converting enzyme in human seminal plasma
In: Protides of the Biological Fluids, Vol. XXXII. (Peeters, H., ed.), pp. 285-288, Pergamon Press, Oxford - New York-Toronto-Sydney-Paris-Frankfurt
- 73) KRSTIĆ, R.V. (1976)
Ultrastruktur der Säugetierzelle
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg
- 74) LEA, O.A. and FRENCH, F.S. (1981)
Characterization of an acidic glycoprotein secreted by principal cells of the rat epididymis
Biochem. Biophys. Acta 668: 370-376
- 75) LIEBERMANN, J. (1975)
Elevation of Serum Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) Level in Sarcoidosis
Am. J. of Med. 59: 365-372
- 76) LIN, T., MURONO, E.P., OSTERMAN, J., NANKIN, H.R. and COULSON P.B. (1981)
Gossypol inhibits testicular steroidogenesis
Fertil. Steril. 35: 563-566
- 77) LINDHOLMER, Ch. (1974)
The Importance of Seminal Plasma for Human Sperm Motility
Biol. Reprod. 10: 533-542
- 78) LIU, Z., LIU, G., HEI, L., ZHANG, R. and YU, C. (1981)
Clinical trial of gossypol as a male antifertility agent.
Recent Advances in Fertility Regulation
160-163. WHO Geneve

- 79) LYSIKIEWICZ, A. and ENHORNING, G. (1983)
Tricolor photography for assessment of spermatozoa motility
Amer. J. Obstet. Gynaec. 145: 229-233
- 80) MacLEOD, J. (1951)
Semen quality in one thousand men of known fertility and in
eight hundred cases of infertile marriage
Fertil. Steril. 2: 115-139
- 81) MacLEOD, J. and FREUND, M. (1958)
The carbohydrate metabolism of human spermatozoa in seminal
plasma
Stud. Fertil. 10: 52
- 82) MacLEOD, J., MARTENS, F., SILBERMAN, C. and SOBRERO, A.J.
(1959)
The post-coital and post-insemination cervical mucus and
semen quality
Stud. Fertil. 10: 41
- 83) MAKLER, A. (1978)
A new multiple exposure photography method for objective
human spermatozoal motility determination
Fertil. Steril. 30: 192-199
- 84) MAKLER, A. (1978)
A new chamber for rapid sperm count and motility estimation
Fertil. Steril. 30: 313-318
- 85) MANN, T. (1951)
Studies on the metabolism of semen: 7. Cytochrome in human
spermatozoa
Biochem. J. 48: 386-388
- 86) MATTHEUS, A. und HEISE, H. (1981)
Der Einfluß von Umwelttoxinen auf die Fertilität
Dermatosen 29: 135-138
- 87) MENG, K. and HABERLAND, G.L. (1973)
Influence of kallikrein on glucose transport in the isolated
intestine
In: Haberland, G.L. and Rohen, J.W. (eds.): Kininogenases-
Kallikrein, Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, pp. 75-81

- 88) MILBRADT, R., LINZBACH, P. und FELLER, H. (1978)
In-Vitro-Stimulation der Spermatozoenmotilität durch ein de-
proteinisiertes Hämoderivat und durch luteinisierendes Hormon
(LH)
Der Hautarzt 29: 652-656
- 89) MITCHELL, J.A., NELSON, L. and HAFEZ, E.S.E. (1976)
Motility of spermatozoa
In: Human Semen and Fertility Regulation in Man.
Edited by Hafez, E.S.E., CV Mosby Co., Saint Louis, pp. 83-99
- 90) MIZUTANI, T. and SCHILL, W.-B. (1985)
Motility of Seminal Plasma-Free Spermatozoa in the Presence
of Several Physiological Components
Andrologia 17(2): 150-156
- 91) MOGHISSI, K.S. (1972)
Sperm migration through the human cervix
In: Cervical mucus in human reproduction. World Health Organi-
zation Colloquium Geneva, Chapter 11, pp. 128-152
- 92) MOHSENIAN, M., SYNER, F. and MOGHISSI, K. (1981)
Study of sperm acrosin in patients with unexplained infer-
tility
Fertil. Steril. 35: 255, Abstr.
- 93) MOONEY, J.K., HORAN, A.H. and LATTMER, J.K. (1972)
Motility of spermatozoa in the human epididymis
J. Urol. 108: 443-445
- 94) MORITA, Z. and CHANG, M.C. (1970)
The motility and aerobic metabolism of spermatozoa in labora-
tory animals with special reference to the effects of cold
shock and the importance of calcium for the motility of
hamster spermatozoa
Biol. Reprod. 3: 169-179
- 95) MORIWAKI, C., MORIYA, Y., YAMAGUCHI, K., KIZUKI, K. and
FUJIMORI, H. (1973)
Intestinal absorption of pancreatic kallikrein and some as-
pects of its physiological role
In: Haberland, G.L. and Rohen, J.W. (eds): Kininogenases-
Kallikrein, Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, pp. 57-66

- 96) MUNOZ, J.M., BRAUN-MENENDEZ, E., FASCIOLO, J.C. and LELOIR, L.F. (1940)
Mechanism of renal hypertension
Am. J. M. Sc. 200: 608-618
- 97) MURDOCH, R.N. and WHITE, I.G. (1968)
Metabolic studies of testicular, epididymal and ejaculated spermatozoa of the ram
Aust. J. Biol. Sci. 21: 111-121
- 98) NATIONAL COORDINATING GROUP ON MALE ANTIFERTILITY AGENTS (1978)
Gossypol. A new antifertility agent for males
Chin. Med. J. (English edn) 4: 417-428
- 99) NELSON, L. (1975)
Spermatozoan motility.
In: Greep, R.O. and Astwood, E.B. (eds.): Handbook of physiology, section 7, Endocrinology. Reproductive system -male vol. 5, Washington, D.C., American Physiological Society.
- 100) OHARA, I. (1977)
The effect of kallikrein in body fluid circulation
In: Haberland, G.L., Rohen, J.W. and Suzuki, T. (eds.): Kininogenases-Kallikrein 4, Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, pp. 321-331
- 101) ONDETTI, M.A. and CUSHMAN, D.W. (1982)
Enzymes of the renin-angiotensin-system and their inhibitors
Ann. Rev. Biochem. 51: 283-308
- 102) OSSER, S., LIEDHOLM, P. and RANSTAM, J. (1984)
Depressed semen quality: a study over two decades
Arch. Androl. 12: 113-116
- 103) OVERSTREET, J.W., KATZ, D.F., HANSON, F.W. and FONSECA, J.R. (1979)
A simple inexpensive method for objective assessment of human sperm movement characteristics
Fertil Steril. 31: 162-172
- 104) PARISET, C.C., ROUSSEL, C., WEINMAN, S.J. and DEMAILLE, J.G. (1983)
Calmodulin Intracellular Concentration and cAMP-dependent Protein Kinase Activity in Human Sperm Samples in Relation to Sperm Morphology and Motility
Gamete Research 8: 171-182

- 105) PLACZEK, R., ENGL, R., KRASSNIGG, F. and SCHILL, W.-B. (1984)
Factors influencing the motility of human spermatozoa in vitro
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 365: pp. 939-940, Abstract
- 106) PLACZEK, R., KRASSNIGG, F., FINK, E. und SCHILL, W.-B. (1985)
Einfluß von ACE-Hemmern, Acetylcholinrezeptor-Blockern, Alpha-Rezeptor-Blockern und Calmodulin-Antagonisten auf die Spermatozoen-Motilität
Fortschritte der Fertilitätsforschung, FDF 13, Kongreßbericht Celle 1985, Grosse Verlag Berlin, pp. 46-50
- 107) PÖSÖ, H., WICHMANN, K., JÄNNE, J. and LUUKKAINEN, T. (1980)
Gossypol: a powerful inhibitor of human spermatozoal metabolism
Lancet 1: 885-886
- 108) PRASAD, M.R.N. and DICZFALUSY, E. (1982)
Gossypol
Int. J. Androl. 5: 53-70
- 109) PREISSLER, G. und SCHILL, W.-B. (1978)
Der Einfluß von Kallikrein auf die Zervixmukuspenetration
Fortschritte der Andrologie 6: 88-100
- 110) QUIAN, S.Z., HU, J.H., HO, L.X., SUN, M.X., HUANG, Y.Z. and FANG, J.H. (1980)
The first clinical trial of gossypol on male antifertility
Proc. 1st. Conf. Clin. Pharmacol. Therapeut., Wuhan, pp. 489-492.
Ed. P. Turner, Macmillan, London.
- 111) QUIAN, S.Z. (1981)
Induction of Gonadal Prostaglandin Biosynthesis
In: Chang and Griffin (eds.): Recent Advances in Fertility Regulation, p. 152. Atar S.A. Geneva
- 112) RABES, H. (1975)
Influence of kallikrein on proliferation of liver cells in vivo and in vitro
In: Haberland, G.L., Rohen, J.W., Blümel, G. and Huber, P. (eds.): Kininogenases - Kallikrein 3, Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, pp. 137-146
- 113) RIDLEY, A.J. and BLASCO, L. (1981)
Testosterone and gossypol effects on human sperm motility
Fertil. Steril. 36: 638-642

- 114) RIXON, R.H. and WHITEFIELD, J.F. (1972)
Kallikrein, Kinin and Cell Proliferation
In: Haberland, G.L. and Rohen, J.W. (eds.): Kininogenases-
Kallikrein, Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, pp.131-145
- 115) ROCHA E SILVA, M., BERALDO, W.T. and ROSENFELD, G. (1949)
Bradykinin, hypotensive and smooth muscle stimulating factor
released from plasma globulin by snake venoms and by trypsin
Am. J. Physiol. 156: 261-273
- 116) ROSADO, A., DELGADS, N.M., HUACUJA, L. and HERNANDEZ, O.
(1982)
Role of Seminal Plasma and Sperm Fertilizability
In: Instrumental Insemination (Hafez, E.S.E. and Semm, K.,
eds.) Martinus Nijhoff Publishers pp. 35-52
- 117) ROWLEY, M.J., LEACH, D.R., WARNER, G.A. and HELLER, C.G.
(1974)
Effect of graded doses of ionizing radiation on human testis
Radiation Research 59: 665-678
- 118) ROZIN, S. (1958)
The role of seminal plasma in motility of spermatozoa
Isr. J. Med. Sci. 17: 24
- 119) SAITO, S., BUSH, I.M. and WHITMORE, W.F. Jr. (1967)
Effects of certain metals and chelating agents on rat and
dog epididymal spermatozoan motility
Fertil. Steril. 18: 517-529
- 120) SAITO, S., BUSH, I.M., MacKENZIE, A.R. and WHITMORE, W.F. Jr.
(1967)
The effects of certain metals and chelating agents on the
motility of dog epididymal and ejaculated spermatozoa
Invest. Urol. 4: 546-555
- 121) SAROSI, P., SCHOENFELD, C., STEINETZ, B.G. and WEISS, G.
(1983)
The effect of rabbit anti-porcine relaxin antibody on sperm
motility in vitro
In: Bigazzi, M., Greenwood, F.C., Gasparri, F. (eds.): Bio-
logy of relaxin and its role in the human. Excerpta Medica,
Amsterdam-Oxford-Princeton, pp. 361-362
- 122) SCHÄFER, W. (1971)
Der kritische Raum
Kleine Senckenberg - Reihe Nr. 4, Kramer-Verlag Frankfurt

- 123) SCHILL, W.-B., BRAUN-FALCO, O. and HABERLAND, G.L. (1974)
The possible role of kinins in sperm motility
Int. J. Fertil. 19: 163-167
- 124) SCHILL, W.-B. and HABERLAND, G.L. (1974)
Kinin-Induced Enhancement of Sperm Motility
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 335: 229-231
- 125) SCHILL, W.-B. and HABERLAND, G.L. (1975)
Wirkungen verschiedener Komponenten des Kallikrein-Kinin
Systems auf die Spermatozoenmotilität in vitro
Klin. Wschr. 53: 73-79
- 126) SCHILL, W.-B. (1978)
Klinische Erfahrungen mit Kallikrein bei der Therapie der
Oligo- und Asthenozoospermie
Fortschritte der Andrologie 6: 52-72
- 127) SCHILL, W.-B. and FEIFEL, M. (1984)
Low acrosin activity in polyzoospermia
Andrologia 16: 589-591
- 128) SCHILL, W.-B., KRASSNIGG, F., MÜLLER-ESTERL, W. and FINK, E.
(1985)
Quantitative determination of different proteins in normal
and pathological semen.
In: Protides of the Biological Fluids, Vol. XXXII. (Peeters,
H., ed.), pp. 293-297, Pergamon Press, Oxford - New York-
Toronto-Sydney-Paris-Frankfurt
- 129) SCHILL, W.-B. (1986)
Der Einfluß von Umweltschadstoffen auf das Spermatogramm
Der Hautarzt 37: 301-303
- 130) SCHIRREN, C., LAUDAHN, G., HARTMANN, E. and HEINZE, I. (1977)
Studies of the correlation of morphological and biochemical
parameters in human ejaculate in various andrological dia-
gnoses II. Biochemical parameters
Andrologia 9: 95-105
- 131) SCHLEGEL, H.G. (1969)
Allgemeine Mikrobiologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp. 115-117

- 132) SCHOENFELD, C., AMELAR, L., DUBIN, L. and NUMEROFF, M. (1978)
Follicle-stimulating hormone, luteinising hormone and testosterone levels found in human seminal plasma
Fertil. Steril. 29: 69-71
- 133) SCHÜTTE, B., ECKMANN, B., WIRSIG, H. und SCHIRREN, C. (1980)
Der Einfluß von Kallikrein auf die Spermatozoenmotilität. In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen
In: Haberland, G.L. and Rohen, J.W. (eds.): Kininogenasen, Kallikrein - Reproduktion II, Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, pp. 1-7
- 134) SCHWABE, C. (1983)
Relaxin in connective tissue diseases
In: Bigazzi, M., Greenwood, F.C., Gasparri, F. (eds.): Biology of relaxin and its role in the human. Excerpta Medica, Amsterdam-Oxford-Princeton, pp. 402-409
- 135) SCHWEISFURTH, H. (1980)
Das Angiotensin-I-converting-enzyme bei verschiedenen Erkrankungen
Med. Welt 31 (48): 1758-1759
- 136) SELYE, H. (1950)
The physiology and pathology of exposure to stress
Acta Inc. Medical Publ. Montreal
- 137) VON SENGBUSCH, P. (1979)
Molekular- und Zellbiologie
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York, pp. 266-275
- 138) SETTLAGE, D.S.F., MOTOSHIMA, M. and TREDWAY, D.R. (1973)
Sperm transport from the external cervical os to the fallopian tubes in women: A time and quantitation study
Fertil. Steril. 24: 655-661
- 139) SHULMAN, S., HARLIN, B., DAVIS, P. and REYNIK, J.V. (1978)
Immune infertility and new approaches to treatment
Fertil. Steril. 29: 309-313
- 140) SILVERSTEIN, E., FRIEDLAND, J., LYONS, H.A. and GOURIN, A. (1976)
Elevation of Angiotensin-Converting-Enzyme in Granulomatous Lymph Nodes and Serum in Sarcoidosis: Clinical and possible Pathogenic Significance
Ann. N.Y. Sci. 278: 498-513

- 141) SILVERSTEIN, E., FRIEDLAND, J., LYONS, H.A. and GOURIN, A.
(1976)
Markedly elevated angiotensin converting enzyme in lymph
nodes containing non-necrotizing granulomas in sarcoidosis
Proc. Natl. Acad. Sci. 73 (6): 2137-2141
- 142) SKEGGS, L.T., MARSH, W.H., KAHN, J.R. and SHUMWAY, N.P.
(1954)
The existence of two forms of hypertensin
J. Exp. Med. 99: 275-282
- 143) SKEGGS, L.T., MARSH, W.H., KAHN, J.R. and SHUMWAY, N.P.
(1954)
Purification of hypertensin
J. Exp. Med. 100: 363-370
- 144) SKEGGS, L.T., MARSH, W.H., KAHN, J.R. and SHUMWAY, N.P.
(1955)
Amino acid composition and electrophoretic properties of hy-
pertensin I
J. Exp. Med. 102: 435-440
- 145) SOFFER, R.L. (1976)
Angiotensin-Converting-Enzyme and the Regulation of Vaso-
active Peptides
Ann. Rev. of Biochem. 45: 73-94
- 146) SPEIDEL, H. (1967)
Über Erfahrungen bei der Behandlung psychiatrischer Patien-
ten mit Jatroneural
Therapiewo. 17: 309-312
- 147) STAUBER, M. (1979)
Psychosomatik der sterilen Ehe
Fortschritte der Fertilitätsforschung, FDF 7, Grosse Verlag
Berlin, pp. 112-143
- 148) STEINER, R., BAUMEISTER, T., BUHL, A. and KAUFMANN, R. (1982)
Motility measurement of human spermatozoa: comparison of
dynamic light scattering and microphotographs
In: Sattelle, D.B., Lee, W.I. and Ware, B.R. (eds.): Bio-
medical Applications of Laser Light Scattering, Elsevier
Biomedical Press pp. 221-237

- 149) STEPHENS, D.T., CRITCHLOW, L.M. and HOSKINS, D.D. (1983)
Mechanism of inhibition by gossypol of glycolysis and motility of monkey spermatozoa in vitro
J. Reprod. Fert. 69: 447-452
- 150) STÜTTGEN, G. (1973)
Clinical substantiation of the effect of kallikrein
In: Haberland, G.L. and Rohen, J.W. (eds.): Kininogenases-Kallikrein 1, Schattauer Verlag, Stuttgart - New York, pp. 189-193
- 151) SUAREZ, S.S., KATZ, D.F. and OVERSTREET, J.W. (1983)
Movement characteristics and acrosomal status of rabbit spermatozoa recovered at the site and time of fertilization.
Biol. Reprod. 29: 1277-1287
- 152) TASH, J.S. and MEANS, A.R. (1982)
Regulation of Protein Phosphorylation and Motility of Sperm by Cyclic Adenosine Monophosphate and Calcium
Biol. of Reprod. 26: 745-763
- 153) TIGERSTEDT, R. und BERGMAN, P.G. (1898)
Niere und Kreislauf
Skand. Arch. Physiol. 8: 223-271
- 154) TSCHIRLEY, F.H. (1986)
Dioxin
Sci. Am. 254: 21-27
- 155) TSO, W.-W. and LEE, C.-S. (1982)
Cottonseed oil as a vaginal contraceptive
Arch. Androl. 8: 11-14
- 156) DE TURNER, E.A., APARICIO, N.J., TURNER, D. and SCHWARZSTEIN L. (1978)
Effect of two phosphodiesterase inhibitors, cyclic adenosine 3'-5'-monophosphate and a beta-blocking agent on human sperm motility
Fertil. Steril. 29: 328-331
- 157) VESTER, F. (1976)
Phänomen Stress
Deutsche Verlagsanstalt, Stuttgart

- 158) WALES, R.G. and WHITE, I.G. (1958)
The Effect of Alkali Metal, Magnesium and Calcium Ions on
the Motility of Fowl Spermatozoa
Aust. J. Biol. Sci. 11: 589-597
- 159) WALES, R.G. and WHITE, I.G. (1958)
The Effect of the Ions of the Alkali Metals Magnesium and
Calcium on Dog Spermatozoa
J. Physiol. 142: 494-502
- 160) WALLER, D.P., ZANEVELD, L.J.D. and FONG, H.H.S. (1980)
In-vitro spermicidal activity of gossypol
Contraception 22: 183-186
- 161) WALLER, D.P., FONG, H.H.S., CORDELL, G.F. and SOEJARTO, D.D.
(1981)
Antifertility effects of gossypol and its impurities on male
hamsters
Contraception 23: 653-658
- 162) WALLNER, O., SCHILL, W.-B., GRÖSSER, A. and FRITZ, H. (1975)
Participation of the Kallikrein-Kinin-System in Sperm Penetration
Through Cervical Mucus: In Vitro Studies
In: Haberland, G.L., Rohen, J.W., Schirren, C. and Huber, P.
(eds.): Kininogenases - Kallikrein 2, Schattauer Verlag,
Stuttgart-New York, pp. 63-70
- 163) WANG, Y.E., NAI-GONG et al. (1984)
Sperm motility inhibition by gossypol
Acta Pharma, Sinica 19: 932
- 164) WERLE, E., GÖTZ, W. und KEPPLER, A. (1937)
Über die Wirkung des Kallikreins auf den isolierten Darm und
über eine neue darmkontrahierende Substanz
Biochem. Ztschr. 289: 217-233
- 165) WERLE, E. und MÜLTHAUP, G. (1937)
Über den einfachen Nachweis der peripheren Gefäßwirkung des
Padutins
Münchn. med. Wschr. 84 (1): 407-409
- 166) WERLE, E., TRAUTSCHOLD, I. and LEYSATH, G. (1961)
Isolation and structure of kallidine
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 326: 174-176

- 167) WERLE, E. (1973)
History of kallikrein and some aspects of its chemistry and physiology
In: Haberland, G.L. and Rohen, J.W. (eds.): Kininogenases-Kallikrein I, Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, pp.7-22
- 168) WHITE, I.G. (1953)
The effect of washing on the motility and metabolism of ram, bull and rabbit spermatozoa
J. Exp. Biol. 30: 200-213
- 169) WHITE, I.G. (1953)
The effect of potassium on the washing and dilution of mammalian spermatozoa
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 31: 193-200
- 170) WHITE, I.G., LARSEN, L.H. and WALES, R.G. (1959)
Method for the in vitro collection of epididymal spermatozoa and for their comparison with ejaculated cells
Fertil. Steril. 10: 571-577
- 171) WHITE, I.G. and WALES, R.G. (1961)
Comparison of epididymal and ejaculated semen of the ram
J. Reprod. Fert. 2: 225-237
- 172) WYROBEK, A.J. (1983)
Methods for Evaluating the Effects of Environmental Chemicals on Human Sperm Production
Environmental Health Perspectives 48: 53-59
- 173) WYROBEK, A.J., WATCHMAKER, G. and GORDON, L. (1984)
An Evaluation of Sperm Tests as Indicators of Germ-Cell Damage in Men Exposed to Chemical or Physical Agents
Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis 4: 83-107
- 174) XUE, (1981)
Inhibition of Germ Cell Differentiation
In: Chang and Griffin (eds.): Recent advances in Fertility Regulation, p. 122. Atar S.A. Geneva

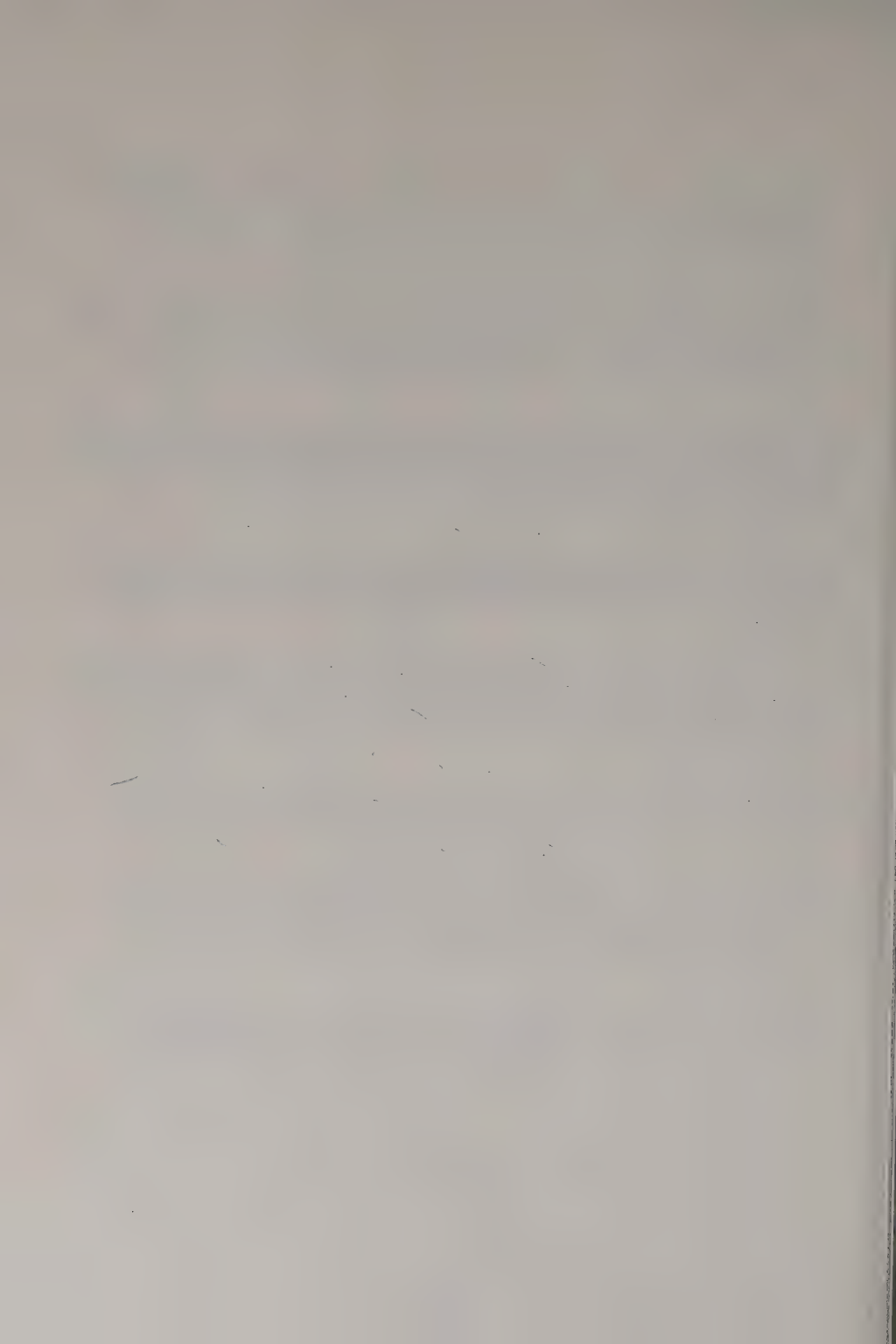
8. DANKSAGUNG

Herrn Professor Dr. med. W.-B. Schill danke ich für die Überlassung des Themas der Doktorarbeit, für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und für seine wertvollen Ratschläge während der Durchführung.

Ganz herzlich möchte ich Herrn Dr. phil.-nat. F. Krassnigg für die stetige und geduldige Diskussionsbereitschaft, die vielen hilfreichen Hinweise und die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit danken.

Besonders erwähnen möchte ich auch die Hilfsbereitschaft von Frau Dr. rer.-nat. E. Töpfer-Petersen, Frau A. Weiss und Frau A. Spitzauer, die mir in vielen praktischen Fragen weiterhelfen konnten.

Nicht zuletzt danke ich Frau M. Feifel, Frau I. Koukouwetsos und Frau A. Kaiser für ihre freundliche Unterstützung bei Problemen technischer Art.



9. LEBENS LAUF

Am 17. September 1955 wurde ich als Sohn des Arztes Dr. Reinhard Placzek und seiner Frau Margarete Placzek, geb. Gebauer, in Würzburg geboren.

Von 1961 bis 1965 besuchte ich die Volksschule in Aub und von 1965 bis 1974 das Gymnasium in Weikersheim, wo ich 1974 das Abitur ablegte. Meinen Wehrdienst leistete ich von Juli 1974 bis September 1975 ab. Anschließend absolvierte ich ein viermonatiges Krankenpflegepraktikum in der Missionsärztlichen Klinik in Würzburg.

Im April 1976 begann ich eine Berufsausbildung als medizinisch-technischer Laboratoriumsassistent an der staatlich anerkannten Lehranstalt für technische Assistenten in der Medizin in Tübingen, die ich im März 1978 mit dem Staatsexamen abschloß. Danach nahm ich an einer Zusatzausbildung als medizinisch-technischer Radiologieassistent teil. Von September 1978 bis Oktober 1979 arbeitete ich als MTA im psychophysiologischen Forschungslabor der Universitäts-Nervenklinik in Tübingen.

Im November 1979 nahm ich mein Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München auf, wo ich im August 1981 die ärztliche Vorprüfung und im Mai 1986 das medizinische Staatsexamen ablegte.

Im Mai 1983 begann ich meine Dissertationsarbeit in der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München unter Leitung von Herrn Professor Schill.

